



UNIVERSITÉ DE LA RÉUNION

Faculté des Sciences et Technologies

Ecole Doctorale Sciences, Technologies et Santé (E.D.S.T.S-542)

THÈSE

Présentée à l'Université de La Réunion pour obtenir le

DIPLÔME DE DOCTORAT

Discipline : Biologie des populations et écologie
UMR Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical
CIRAD - Université de La Réunion

Bioécologie et diversité génétique d'*Orthops palus* (Heteroptera, Miridae), ravageur du manguier à La Réunion

par

Morguen ATIAMA

Soutenue publiquement le 31 mars 2016 à l'IUT de Saint-Pierre, devant le jury composé de :

Bernard REYNAUD, Professeur, PVBMT, Université de La Réunion

Président

Anne-Marie CORTESERO, Professeur, IGEPP, Université de Rennes 1

Rapporteuse

Alain RATNADASS, Chercheur, HORTSYS, CIRAD

Rapporteur

Karen McCOY, Directrice de recherche, MiVEGEC, IRD

Examinatrice

Encadrement de thèse

Jean-Philippe DEGUINE, Chercheur, PVBMT, CIRAD

Directeur

"Je n'ai pas d'obligation plus pressante que celle d'être passionnément curieux"

Albert Einstein

"To remain indifferent to the challenges we face is indefensible. If the goal is noble, whether or not it is realized within our lifetime is largely irrelevant. What we must do, therefore, is to strive, and persevere, and never give up."

Daila Lama

Remerciements

Mes premiers remerciements vont à ceux qui m'ont encadré jour après jour. Initialement trois, les péripéties de la vie, ne m'ont malheureusement pas permis d'avoir la chance de côtoyer Serge sur la dernière année de ma thèse. Je voulais lui rendre hommage et le remercier sincèrement de l'aide et de l'orientation qu'il a donnée à mes travaux.

Je te remercie sincèrement Hélène ! J'ai énormément appris à tes côtés ! Reconnue pour ta rigueur, nos nombreuses digressions m'ont tant de fois ramené les pieds sur Terre quand le stress de la thèse faisait des siennes ! Merci pour la qualité de ton encadrement, aussi bien dans les conseils de génétique pure que dans l'aide aux réflexions plus écologiques.

Je te remercie grandement, Jean-Philippe, pour ton encadrement et pour avoir fait ton maximum pour que ma thèse se réalise sans encombre. Je profite également pour te remercier des multiples années de travail réalisées ensemble et qui se concrétisent par la réalisation de cette thèse.

Je remercie mes financeurs la Région Réunion ainsi que mon laboratoire d'accueil, le Cirad, qui ont toujours tout mis à ma disposition pour le bon déroulement de ma thèse. Je remercie de même tout le personnel de l'UMR PVBMT et du 3P pour leur accueil et de la station de Bassin-Plat pour avoir de nombreuses fois mis à disposition leur parcelle pour mes essais.

Je remercie tous les membres de mes comités de thèse pour leurs conseils et orientations. Je remercie également les membres de mon jury d'avoir accepté d'être présents à ma soutenance.

Je remercie l'ensemble des personnes qui ont collaboré de loin ou de près à la réalisation de mon travail : Thibault ©, Armand, Alain, Régis, Dominique, Maxime, Mickaël, Paul, Coline, Thomas, Sookar, Permalloo. Merci pour votre aide précieuse !

Merci à l'ensemble des membres du projet BIOPHYTO qui m'ont permis de mener à bien mes expérimentations. Des remerciements spéciaux aux agriculteurs réunionnais et mauriciens qui ont toujours été conciliants et intéressés par les essais mis en place ! Des remerciements spéciaux à Mr Boyer, Mr Maillot, Mr Puylaurent et Mr Paulet !

Merci à mes collègues de la Chambre d'Agriculture et de la FDGDON, Didier, Luc et Bruno pour leur aide et un "merci" spécial à Eric pour son aide sur le terrain dans l'étude de cette tite "pinaise" et pour nous avoir fait découvrir les "plaisirs" du chemin du Théâtre ! Un grand merci aux collègues de l'Armefflor : Chloé, Rachel, Baptiste, Jean-Seb, Julien.....

Merci à vous les statisticiens du Cirad (Fred, Agathe, et Sandrine).

Tout ce travail n'aurait pu être réalisé sans l'aide de cette incroyable équipe de techniciens dont l'aide technique mais aussi la bonne humeur et l'humour ont rythmé ces trois années ! Merci à Moutou, Lulu, Antoine, Cédric, Éric, Gérard, Martial, Jim, Serge, Emmanuelle, Mumu.

Je remercie les différents stagiaires qui m'ont aidé durant mes travaux : Sandro, Béatrix, Maéva, Mathieu, Yohan.

A mon inestimable grande sœur Toulassi dont l'aide, les conseils et le soutien sont sans égal ! Ma grande sœur de toujours qui m'aura fait comprendre que la thèse n'est qu'une étape, un tremplin pour une vie professionnelle épanouie.

Un grand merci à Maéva pour avoir toujours répondu à mes appels à l'aide face à l'univers du monde de l'analyse génétique ! C'est trop gentil de ta part et j'espère ne pas t'avoir trop embêté ☺ !

Merci à toute la Team Agroécologie pour l'aide précieuse dans la finalisation du manuscrit !

A toutes ces personnes qui même si elles n'ont pas été directement impliquées dans la réalisation de mon travail, ont par leur sourire, et leur bonne humeur, fait de ces trois années des moments agréables : Micheline et Michel, Sylvain, Cynthia D., Océane, Iréné, Patrick, Magalie, Virginie, Josian, Stephanie J., Jean-Pierre,

Merci à tous pour vos rigolades et bonne humeur : Cédric L., Nicolas, Hugo, Maud, Oriane, Abir, Sasa (courage ☺), Noura, Lucie, Yanis, Alice, Jeremy G., Jeremy H., Jeremy R., Arnaud, Lucille, Cynthia, Brice D., Brice T., Marie, Sophie,

Merci à mes amis ciradiens pour votre soutien : Tristan, Joëlle, Maéva, Rodolphe (#OM#), Stéphanie D., Dominique D., Auria, ...

Merci à mes amis pour leur soutien et nos déconnades : Livie, Christelle, Clément (#NY#DCPF©) & Laura, Yann, Jean-Gaël, Emmanuelle D., Priya, Célia, Anaïs, Michel, Taf, Vince, Joe, Damien, Chollet, Bruno, TiFab, Francis, Julie & Willy L., Sandrine, RamyeN, ..

Les mots se tarissent quand au-delà du professionnalisme, il faut saluer "la grandeur d'âme" de certaines personnes. A ces personnes dont les gestes, les sourires, les paroles m'ont fait y croire toujours plus fort, toujours plus haut, quand les difficultés scientifiques et humaines se sont immiscées au travers de mon chemin. J'entends par ces personnes, Tristan, Joëlle, Moutou et David Teyssedre, qui au-delà d'être de formidables Amis, sont de « Grands Hommes et Femmes » que tout le monde rêverait d'avoir à leur côté !

A mes sœurs, frère, neveux et nièces, beau-frère qui ont toujours été présents pour moi quoiqu'il arrive. Une petite pensée spéciale, à ma petite filleule, Mia, qui a vu le jour ce 22 octobre, et qui m'a tant libéré par ces sourires, ces gazouillements dans ces derniers mois de thèse, qui on le sait ne sont pas toujours faciles.

A ma Mère et mon Père, à qui je dédie cette thèse ! "Auteurs de l'auteur" (#), ils ont eu le mérite de me supporter, me soutenir et me "cajoler" durant ces trois années.

A toi, dont l'importance est inestimable dans la réussite professionnelle et spirituelle de ma thèse ! Je ne compte plus nos heures au téléphone, toi m'écoutant raconter les péripéties de cette petite punaise pour finir par t'endormir minionnement ! "Les berceuses d'*O. palus*" ! Tu sais toute l'affection que j'ai pour toi ma petite ! Par ses quelques mots, je voulais te le témoigner et te remercier sincèrement de ta présence, de ton réconfort, de tes regards et souffles de courage !

Quand je viens à vous écrire, ces derniers mots, c'est que cette aventure touche à sa fin. Cette aventure qui a rythmé trois ans de ma vie. Qui a rythmé trois ans de ma vie à vos côtés ! Je vous en remercie du fond du cœur !

Table des matières

Table des matières

Abréviations et sigles.....	3
Liste des figures et des planches.....	4
Liste des tables.....	7
Production scientifique et technique	9
 Introduction générale.....	 11
Contexte et enjeux	12
Cadre et modèles d'étude	16
Problématique, objectifs scientifiques et questions de recherche.....	40
Démarche scientifique	42
Organisation du manuscrit.....	45
 Chapitre I-Synthèse bibliographique-Les mirides et quelques cas d'étude en cultures fruitières tropicales	 62
Introduction	63
Article en préparation: Mirids (Hemiptera: Miridae) of tropical fruit crops. A Review	64
 Chapitre II-Les mirides des vergers de manguiers à La Réunion	 120
Introduction	121
Résumé des études du chapitre	122
Article: Characterization of Mirid assemblages (Heteroptera, Miridae) in mango orchards in Reunion Island and implementation of identification and recognition tools.....	123
Planches photographiques	144

Chapitre III-Bioécologie d'<i>Orthops palus</i>.....	146
Introduction	147
Résumé des études du chapitre	148
Article: First results on bioecology of <i>Orthops palus</i> (Heteroptera: Miridae)	149
Planches photographiques	174
 Chapitre IV-Diversité génétique et structuration des populations d'<i>Orthops palus</i>	177
Introduction	178
Résumé des études du chapitre	180
Article 1: Isolation and Characterization of Eleven polymorphic Microsatellite Markers developed for the mango bug, <i>Orthops palus</i> (Heteroptera: Miridae)	183
Article 2: Population genetic structure of <i>Orthops palus</i> (Heteroptera: Miridae) in Reunion Island and bioecological implications	197
Article 3: First description, genetic diversity and structuring of <i>Orthops palus</i> (Heteroptera: Miridae) in the south-west Indian Ocean islands	229
 Chapitre V-Discussion générale.....	259
Rappel des principaux résultats	261
<i>Orthops palus</i> : une espèce de miride présente toute l'année	261
<i>Orthops palus</i> : une présence et des échanges dans le Sud-Ouest de l'Océan Indien.....	271
Perspectives de recherche	274
Applications pratiques pour la gestion agroécologique des populations d' <i>Orthops palus</i> . 276	
 Conclusion générale	295
 Annexes	298

Abréviations et sigles

ACP (PCA)	Analyse en Composantes Principales (Principal Components Analysis)
ADN (DNA)	Acide DésoxyriboNucléique (DesoxyriboNucleic Acid)
ADNmt (mtDNA)	ADN mitochondrial (mitochondrial DNA)
AMOVA	Analyse MOléculaire de VAriance
BIOPHYTO	Production durable de mangues sans insecticide à La Réunion
CIRAD	Centre de coopération Internationale de Recherche Agronomique pour le Développement
COI	Cytochrome c Oxydase subunit I
DAPC	Analyse discriminante en composantes principales (Discriminant Analysis of Principal Components)
HWE	Equilibre du modèle d'Hardy-Weinberg (Hardy-Weinberg Equilibrium)
GAMOUR	Gestion Agroécologique des MOUches des légumes à La Réunion
GLM	Modèle Linéaire Généralisé
PCR	Réaction en chaine par polymérase (Polymerase Chain Reaction)
PAEC	Protection AgroÉcologique des Cultures
PFI	Production Fruitière Intégrée
SOOI (SWIO)	Sud-Ouest de l'Océan Indien (South-West of Indian Ocean)
UMR PVBMT	Unité Mixte de Recherche – Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieux Tropical

Liste des figures et des planches

Introduction générale

Figure 1. Localisation géographique des archipels et des îles du Sud-Ouest de l’Océan Indien	15
Figure 2. Îles et archipels du Sud-Ouest de l’Océan Indien, avec l’estimation de leur âge géologique (en jaune) et leur date de première colonisation durable (en rouge).....	15
Figure 3. Pluviométrie cumulée sur l’année 2014 à La Réunion	17
Figure 4. Illustration de la diversité d’invertébrés présents à La Réunion	19
Figure 5. Répartition communale des cultures fruitières à La Réunion	21
Figure 6. Stades végétatifs du manguier (<i>Mangifera indica</i> L.).....	25
Figure 7. Stades reproducteur du manguier (<i>Mangifera indica</i> L.).....	27
Figure 8. Cycle phénologie du manguier (<i>Mangifera indica</i> L.) de la variété Cogshall à La Réunion.....	27
Figure 9. Répartition des trois principales zones de culture du manguier (<i>Mangifera indica</i> L.) à La Réunion.....	29
Figure 10. Fruits des deux principales variétés de manguier (<i>Mangifera indica</i> L.) cultivées à La Réunion.....	31
Figure 11. Classification taxonomique d’ <i>Orthops palus</i>	33
Figure 12. Stades reproducteurs du manguier (<i>Mangifera indica</i> L.).....	35
Figure 13. Adulte d’ <i>Orthops palus</i> (Taylor, 1947)	37
Figure 14. Première description d’ <i>Orthops palus</i> par Taylor en 1947.....	37

Chapitre I

Figure I-1. General morphology of a <i>Lygus</i> sp (Miridae)	67
Figure I-2. <i>Sahlbergella singularis</i> (Hagl.) and <i>Distantiella theobroma</i> (Dist.).....	80
Figure I-3. Damages to cocoa caused by <i>Sahlbergella singularis</i> (Hagl.) and <i>Distantiella theobroma</i> (Dist.).....	80
Figure I-4. Damages to cashew young flush caused by <i>Helopeltis antonii</i> Signoret.....	84
Figure I-5. Damages to guava flower buds caused by <i>Hyalopeplus pellucidus</i> Stal	88

Chapitre II

Figure II-1. Maps of south-west Indian Ocean and Reunion Island (with the location of the 14 mango orchards surveyed in 2012, 2013 and 2014)	125
Figure II-2. Miridae species collected in mango orchards in Reunion Island (2012-2014), dorsal view.....	129/131
Figure II-3. Taxonomic key of mirid species of mango orchards in Reunion Island.....	133
Figure II-4. Anatomical characteristics used in the taxonomic identification key of mango orchard mirid species.	135
Figure II-5. Field card of mirid recognition in mango orchards in Reunion Island.....	139

Planche photographique 1. Stades de développement d' <i>Orthops palus</i> (Taylor, 1947).....	144
--	-----

Planche photographique 2. Vues dorsales d'adultes d' <i>Orthops palus</i> , illustrant la variabilité de couleur externe.....	145
--	-----

Chapitre III

Figure III-1. Rearing procedure of <i>Orthops palus</i>	154
Figure III-2. Biological cycle of <i>Orthops palus</i> on green bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)....	156
Figure III-3. Blooming calendar of host plant of <i>Orthops palus</i> in Reunion Island.....	162

Planche photographique 3. Œufs d' <i>Orthops palus</i> et caractéristiques d'insertion dans les tissus végétaux.....	174
---	-----

Planche photographique 4. Stades de développement d' <i>Orthops palus</i> (Taylor, 1947) <i>in situ</i>	175
--	-----

Planche photographique 5. Symptômes sur le manguier provoqués par les piqûres de nutrition d' <i>Orthops palus</i>	176
---	-----

Chapitre IV

Figure IV-1. Spatial distribution of the two genetic clusters of <i>Orthops palus</i> at the 34 sites sampled in Reunion Island	199
Figure IV-2. Flowering period of the six main host plants of <i>Orthops palus</i>	203
Figure IV-S1. Mean abundance of <i>Orthops palus</i> adults by tree for 6 host plants.....	217
Figure IV-S2. Average likelihood of runs in structure and optimum number of clusters (delta <i>K</i>) according to Evanno <i>et al.</i> (2005).....	218
Figure IV-S3. Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) among individual genotypes of <i>Orthops palus</i> in Reunion Island.....	219
Figure IV-S4. Admixture proportions and Principal Component Analysis among genotypic clusters.....	220
Figure IV-3. Map of sampling location of <i>Orthops palus</i> in islands in the south-western Indian Ocean and haplotype distribution.....	231
Figure IV-4. Admixture proportions and PCA among genotypic clusters	239
Figure IV-5. Haplotype network based on the seven COI sequence types of <i>Orthops palus</i>	241
Figure IV-S5. Average likelihood of runs in structure and optimal number of clusters (<i>K</i>) of <i>Orthops palus</i> populations in Mauritius according to Evanno <i>et al.</i> (2005).....	251
Figure IV-S6. Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) among individual genotypes of <i>Orthops palus</i> in Mauritius and Reunion Island	252
Figure IV-S7. Maximum likelihood tree of 9 haplotypes of Cytochrome c oxidase subunit I of <i>Orthops palus</i> in islands in the south-western Indian Ocean	253

Discussion générale et conclusion

Figure V-1. Principaux résultats de la thèse regroupés en 4 grandes thématiques.....	260
Figure V-2. Méthodes de mise en œuvre de la protection agroécologique des cultures sur le terrain.....	278
Figure V-3. Inflorescences de manguier présentant simultanément des symptômes de piqûres d' <i>Orthops palus</i> et d'attaques d'autres bioagresseurs.....	279

Liste des tables

Introduction générale

Table 1. Caractéristiques géologiques et géographiques de La Réunion et de Maurice.....15

Table 2. Principaux ravageurs du manguier à La Réunion, organes attaqués et importance en termes de dégâts générés.....31

Chapitre I

Table I-1. Miridae, pests of tropical fruit crop65

Chapitre II

Table II-1. Geographical characterization of the 14 mango orchards.....125

Table II-2. Miridae species composition in the mango canopy in Reunion Island131

Table II-3. Collection and Genbank information for Miridae species collected in mango orchards in Reunion Island.....137

Chapitre III

Table III-1. Comparison of the duration of *Orthops palus* nymph stages on each of the three plants (green bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Brazilian pepper (*Schinus terebenthifolius* Raddi), and mango (*Mangifera indica* L.)) in the laboratory.....156

Table III-2. *Orthops palus* host plants in Reunion Island, and importance of adult and nymph populations.....158

Chapitre IV

Table IV-1. Characteristics of the eleven microsatellite markers isolated from *Orthops palus*186

Table IV-2. Number of alleles (Na), observed (Ho) and expected (He) heterozygosity, Fis estimates and test for Hardy-Weinberg equilibrium (*p < 0.01) and null allele frequency in the four populations studied.....188

Table IV-3. Pairwise FST values of 4 populations of *Orthops palus* of Reunion Island190

Table IV-4. Host plants and sites in Reunion Island where <i>Orthops palus</i> was sampled ...	201
Table IV-5. Primer information concerning the 11 loci used for <i>Orthops palus</i> populations Island	205
Table IV-6. Genetic variability of <i>Orthops palus</i> populations per site	208
Table IV-S1. Analyses of molecular variance (AMOVA) of the 34 populations of <i>Orthops palus</i> sampled in Reunion Island	215
Table IV-S2. Pairwise F_{ST} values per site for <i>Orthops palus</i>	216
Table IV-7. Information on <i>Orthops palus</i> host plants and sites in Mauritius, Mayotte (Coconi and Malamani) and Grande Comore (Mjdoyesi).....	233
Table IV-8. Genetic variability of <i>Orthops palus</i> populations per site in Mauritius	237
Table IV-S3. Host plants and sites in Reunion Island where <i>Orthops palus</i> was sampled <i>palus</i>	247
Table IV-S4. Primer information on the eight loci used for <i>Orthops palus</i> populations of Mauritius	248
Table IV-S5. Analyses of molecular variance (AMOVA) of the 14 populations of <i>Orthops palus</i> sampled in Mauritius.....	249
Table IV-S6. Interpopulation pairwise F_{ST} values by site for <i>Orthops palus</i> on Reunion Island and in Mauritius.....	250

Production scientifique et technique

Mes travaux de thèse ont donné lieu à sept publications scientifiques dans des revues internationales à comité de lecture, une communication dans un congrès international, deux posters dans des congrès internationaux, deux communications dans un congrès national. Par ailleurs, des fiches de formation ont été produites et diffusées auprès des professionnels (agriculteurs, techniciens et conseillers agricoles) de La Réunion. Enfin, en marge de la thèse, j'ai contribué à la production de deux autres articles scientifiques et d'un poster.

Articles dans des revues internationales avec comité de lecture et à facteur d'impact

Accepté	Atiama M., Delatte H., Deguine J.-P., in press. Isolation and Characterization of Eleven polymorphic Microsatellite Markers developed in the mango bug, <i>Orthops palus</i> Taylor (Heteroptera: Miridae). <i>Journal of Insect Science</i> .
Soumis	Atiama M., Ramage T., Jacquot M., Sadeyen J.A.M.E., Delatte H., Deguine J.-P. Characterization of Mirid assemblages (Heteroptera: Miridae) in mango orchards in Reunion Island and implementation of identification and recognition tools. <i>Fruits</i> .
Soumis	Atiama M., Deguine J.-P. First results on bioecology of <i>Orthops palus</i> (Heteroptera: Miridae). <i>Arthropod-Plant Interactions</i> .
Soumis	Atiama M., Deguine J.-P., Delatte H. Population genetic structure of <i>Orthops palus</i> (Heteroptera: Miridae) in Reunion Island and bioecological implications. <i>Ecology and Evolution</i> .
En préparation	Atiama M., Deguine J.-P., Sookar P., Delatte H. Genetic diversity and structuring of <i>Orthops palus</i> (Miridae) in Mascarenes Islands according to host-plant.
En préparation	Atiama M., Babin R., Wheeler A., Deguine J.-P. Miridae of tropical fruit crops. <i>International Journal of Pest management</i> .

Articles dans des revues internationales avec comité de lecture et sans facteur d'impact

Soumis	Atiama M., Delatte H., Simiand C., Moutoussamy M.-L., Schmitt T., Béziat B., Deguine J.-P. <i>Orthops palus</i>, a major pest of mango orchards in La Reunion. <i>Acta Horticulturae</i> .
--------	---

Communications dans des congrès internationaux ¹

Atiama M., Delatte H., Simiand C., Moutoussamy M.-L., Schmitt T., Béziat B., Deguine J.-P., 2015. ***Orthops palus*, a major pest of mango orchards in La Reunion.** XI International Mango Symposium, Darwin, Australie. 27 septembre - 02 octobre 2015.

¹ Dans le cas des communications et des posters, le nom du présentateur est souligné

Communications dans des congrès nationaux ¹

Atiama M., Ramage T., Schmitt T., Moutoussamy M.-L., Matocq A., Ajaguin Soleyen C., Muru D., Jacquot M., Deguine J.-P., 2015. **Bioécologie de la Punaise du manguier, *Orthops palus***. In : Deguine J.-P., Gloanec C., Schmitt T. (eds), 2015. Biodiversité et protection agroécologique des cultures. Actes du Séminaire Biophyto, Saint-Pierre, La Réunion. 21-24 octobre 2014. Saint-Denis : Chambre d'agriculture de La Réunion, 216 p. ISBN: 978-2-87614-704-1, 132-136.

Muru D., Jacquot M., Tenailleau M., Derepas B., Gasnier S., Rochat J., Atiama M., Moutoussamy M.-L., Ajaguin Soleyen C., Deguine J.-P., 2015. **Biodiversité des arthropodes dans les vergers de manguiers à La Réunion : Inventaires et catalogues**. In : Deguine J.-P., Gloanec C., Schmitt T. (eds), 2015. Biodiversité et protection agroécologique des cultures. Actes du Séminaire Biophyto, Saint-Pierre, La Réunion. 21-24 octobre 2014. Saint-Denis : Chambre d'agriculture de La Réunion, 216 p. ISBN: 978-2-87614-704-1, 141-144.

Posters présentés dans des congrès internationaux ¹

Atiama M., Ajaguin Soleyen C., Delatte H., Matocq A., Moutoussamy M.-L., Ramage T., Tenailleau M., Deguine J.-P., 2014 **Preliminary results on the status of *Orthops palus* (Heteroptera, Miridae), a major pest of mango in Reunion Island**. 5th Quadriennial Meeting of the International Heteropterists' Society, Washington D.C, USA. 20 - 24 juillet 2014.

Jacquot M., Atiama M., Muru D., Chiroleu F., Tenailleau M., Gasnier S., Rochat J., Plessix S., Moutoussamy M.-L., Ajaguin Soleyen C., Deguine J.-P., 2015. **Do agroecological practices enhance abundance and species richness of arthropods? A case of study in mango orchards in Reunion**. XI International Mango Symposium, Darwin, Australie. 27 septembre - 02 octobre 2015.

Documents de formation ou de vulgarisation

Atiama M., Ramage T., Deguine J.-P., Jacquot M., 2015. **Fiche de reconnaissance des punaises Mirides dans les vergers de manguiers à La Réunion- Recto : Reconnaissance des 13 espèces de punaises – Verso : Les 3 principales espèces. Fiche terrain- Livrable Agriculteurs Saint-Denis** : Chambre d'agriculture de La Réunion, 02 p.

Articles et posters réalisés en dehors de la thèse

Deguine J.-P., Atiama-Nurbel T., Aubertot J.-N., Augusseau X., Atiama M., Jacquot M., Reynaud B., 2015. **Agroecological management of cucurbit-infesting fruit fly management**. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. doi: 10.1007/s13593-015-0290-5.

Deguine J.-P., Atiama-Nurbel T., Atiama M., 2015. **L'augmentorium : un outil "3-en-1" de production agroécologique des cultures**. Poster présenté lors de la Journée Biocontrôle CTIFL, Bellegarde, 10 novembre 2015.

Jacquot M., Atiama M., Muru D., Chiroleu F., Tenailleau M., Gasnier S., Rochat J., Plessix S., Moutoussamy M.-L., Ajaguin Soleyen C., Deguine J.P. 2015. **Arthropod communities in mango orchards during the flowering season in Reunion Island: effects of agroecological and agrochemical practices**. *Acta Horticulturae*.

Introduction générale

Contexte et enjeux

La mangue, avec plus de 37 millions de tonnes de fruits produits annuellement depuis les années 2010, est la cinquième production fruitière mondiale en termes de tonnages et la seconde production fruitière tropicale (FAOSTAT, 2016). A La Réunion, la mangue représente un enjeu économique important. Fruit emblématique, elle est la deuxième culture la plus importante en terme de surface cultivée, avec près de 150 exploitations. Sa culture et sa production sont néanmoins menacées par plusieurs bioagresseurs (arthropodes, bactéries, champignons). Concernant les arthropodes ravageurs du manguier, l'espèce qui est présentée comme le ravageur n°1 de cette culture est une punaise de la famille des Miridae, *Orthops palus*.

La gestion de ses populations, ainsi que celles de l'ensemble des arthropodes ravageurs du manguier, a reposé jusqu'à ces dernières années sur de la lutte chimique, réalisée par la pulvérisation d'un insecticide de synthèse à large spectre de la famille des pyréthrinoides (lambda-cyhalothrine). Cette lutte chimique se révèle coûteuse et montre de plus en plus souvent ses limites en matière d'efficacité. De plus, ses conséquences sur l'environnement, dans une île considérée comme un "point-chaud" ("hotspot") de biodiversité mondiale, et sur la santé humaine, de plus en plus décriées, orientent les politiques vers une réduction de l'utilisation de pesticides et en particulier des insecticides. A l'échelle nationale, les politiques agricoles françaises se sont engagées à réduire l'utilisation de produits phytosanitaires de 50% d'ici 2025 (plan ECOPYTO 2). ECOPHYTODOM représente la déclinaison de ce plan dans les départements d'Outre-Mer et se concrétise par des expériences de conception et de mise au point de systèmes de cultures économes en produits phytosanitaires (ex : projets DEPHY EXPE comme le projet Rescam² à La Réunion en cultures maraîchères ; réseaux DEPHYFERME sur la canne à sucre ou la mangue). Enfin, la durabilité écologique des systèmes de cultures représente, à La Réunion, un enjeu d'ordre écologique. Cet enjeu impose la conception, la mise en œuvre et le transfert de systèmes de cultures reposant sur des processus écologiques et des interactions optimisées à l'échelle de l'agroécosystème.

² RESCAM : Réseau d'Expérimentations de Systèmes Cultures Agroécologiques Maraîchers - Ce projet vise à concevoir et tester de nouveaux systèmes de culture maraîchers pluriannuels de plein champ, économes en pesticides, en mobilisant des techniques agroécologiques.

Dans ce domaine de la protection des cultures domaine de la protection des cultures, cette orientation s'appuie sur les principes de la Protection Agroécologique des Cultures (PAEC), qui est basée sur trois piliers : (i) la prophylaxie (ii) la lutte biologique de conservation (iii) la gestion des habitats (Deguine et al., 2016). A La Réunion, cette orientation a donné lieu à des expériences pionnières à la fois en cultures maraîchères (Gestion Agroécologique des Mouches des légumes à La Réunion - GAMOUR) et en culture fruitière notamment sur la mangue (projet BIOPHYTO). Ce dernier projet vise une production de mangues sans insecticides à La Réunion. Les travaux de thèse sur *O. palus* s'insèrent de manière cohérente dans les objectifs scientifiques (acquisition de connaissances sur la biodiversité dans les vergers de manguiers, sur le fonctionnement des réseaux trophiques, sur les interactions entre les communautés végétales et animales) et techniques (mise au point de systèmes de culture et modalités de gestion agroécologique des populations) du projet Biophyto.

Cette thèse doit contribuer à répondre à plusieurs enjeux scientifiques. Le premier porte sur la connaissance taxonomique et fonctionnelle des arthropodes dans les agroécosystèmes, la Punaise du manguiers étant considérée comme le ravageur numéro un du manguiers à La Réunion. En effet, les mirides constituent sans doute l'un des groupes les plus intéressants en matière d'étude des interactions insectes phytophages et plantes. D'une part, cette famille est l'une des plus riches avec plus de 11000 espèces décrites (Cassis and Schuh, 2012). D'autre part, les mirides montrent une plasticité trophique et nutritionnelle importante qui est supérieure à la majorité des Hétéroptères (Wheeler, 2000). Il s'agit de l'un des rares ordres d'insectes à être capables de se nourrir à la fois d'un substrat végétal et de proie animale (espèces zoophytophages). La compréhension des facteurs influençant de telles caractéristiques physiologiques représente des bases nécessaires pour la gestion des populations d'insectes dans l'agroécosystème.

Le deuxième enjeu scientifique concerne la compréhension de la dynamique temporelle et spatiale des insectes. Le degré de spécialisation du régime alimentaire et les processus de passage de l'année au sein des agroécosystèmes sont des axes de recherche importants. Les insectes phytophages montrent généralement un fort degré de spécialisation dans leur régime alimentaire (Bernays and Chapman, 1994). Malgré une certaine variabilité entre les différents ordres d'insectes, moins de 10% des insectes phytophages consomment des plantes de plus de trois familles différentes (Bernays and Graham, 1988) et cette spécialisation s'accroît chez les espèces de petite taille (Lindström et al., 1994; Novotny and Basset, 1999). Cette

spécialisation peut constituer une limite quand on sait que les plantes n'offrent que rarement une ressource de qualité et disponible toute l'année. Or, des phénomènes physiologiques permettent aux insectes phytophages présentant une gamme d'hôtes restreinte, aussi bien en termes d'espèces qu'en termes de type d'organes attaqués, de survivre durant l'année (Wheeler, 2001). Une des stratégies de vie qui permet aux insectes de survivre face à cette saisonnalité de la disponibilité en ressource est la diapause (Schoonhoven et al., 2005). La diapause est un phénomène physiologique d'arrêt du développement chez l'insecte. A la différence de la quiescence, qui est "un arrêt provoqué en réponse immédiate et directe à un ou plusieurs facteurs environnementaux", la diapause est génétiquement déterminée et constitue "une interruption déviant le métabolisme continu de l'insecte vers un métabolisme d'arrêt spécifique qui précède l'arrivée des conditions favorables" (Danks, 1987; Denlinger, 2002, 1986). Pour de nombreuses espèces d'insectes des milieux tempérés et froids, la diapause est essentielle pour la passage de l'hiver (Bale and Hayward, 2010; Pullin and Bale, 1989). En milieu tropical, de nombreuses espèces sont connues pour réaliser une diapause (Denlinger, 2002; Hahn and Denlinger, 2011; Pieloor and Seymour, 2001; Tauber et al., 1986), qui leur permet d'éviter les périodes de sécheresse intense (Page, 1980) ou la saison des pluies notamment (Roubik and Michener, 1980). La diapause est un comportement commun chez les mirides, et de nombreuses espèces univoltines (réalisant une génération par an) en milieux tempérés et tropicaux, entrent en diapause au stade œuf ou au stade adulte (Brent, 2012; Kotaki, 1998; Musolin and Numata, 2004; Spurgeon and Brent, 2010; Wheeler, 2001). Etudier ce type de comportement est d'autant plus intéressant que les insectes diapausant, souvent moins réceptifs aux stimuli environnementaux, sont moins sensibles aux insecticides et, au contraire, plus vulnérables aux parasitoïdes et auxiliaires (Danks, 1987). Pour les insectes phytophages fortement polyphages, comme les Orthoptères, le passage de plantes en plantes est une stratégie de survie. Ce changement d'hôtes et d'habitats pour disposer des meilleures sources de nourriture est aussi présent chez les mirides (Esquivel and Mowery, 2007; Snodgrass et al., 1984; Womack and Schuster, 1987). De nombreuses espèces passent ainsi l'année, des plantes sauvages à des plantes cultivées et des plantes cultivées à des plantes sauvages (Jackson et al., 2014; Kumar et al., 2013; Pan et al., 2013; Parajulee and Shrestha, 2014). Ces plantes sauvages constituent ainsi des plantes réservoirs qui permettent aux mirides phytophages de se maintenir à des niveaux de populations suffisants pour infester les plantes cultivées lorsque les conditions sont favorables (floraison, débourrement). La compréhension de la stratégie d'*O. palus* pour passer l'année (diapause et/ou passage de plantes en plantes tout au long de l'année) correspond au deuxième enjeu scientifique.

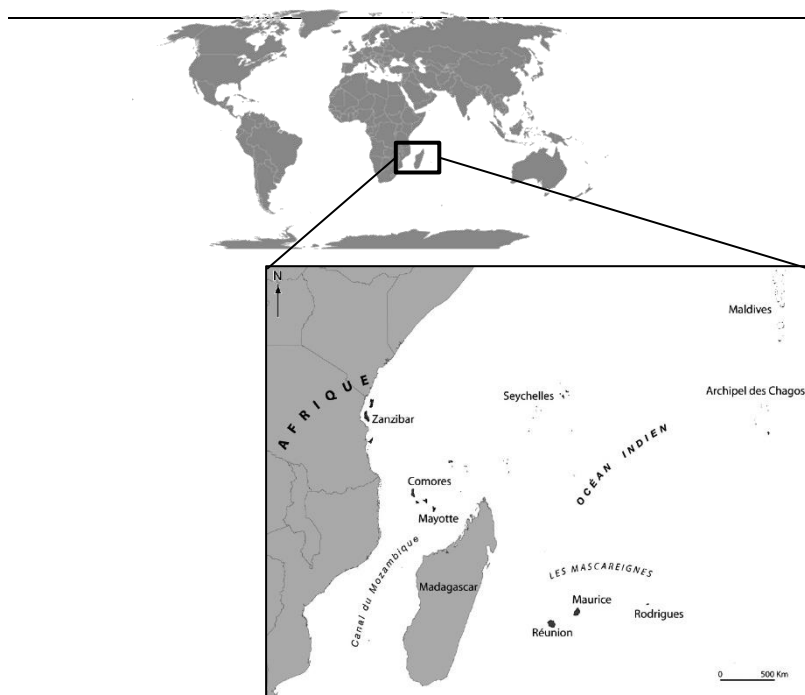


Figure 1. Localisation géographique des Archipels et des îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien
(D'après Jauze, 2009)

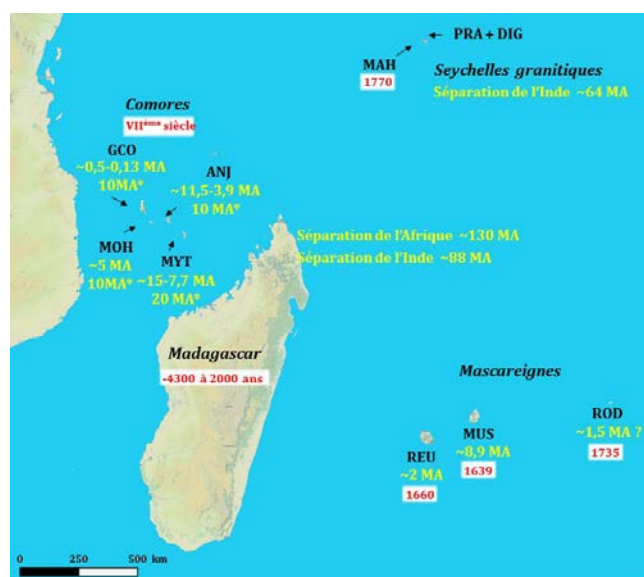


Figure 2. Îles et archipels du Sud-Ouest de l'Océan Indien, avec l'estimation de leur âge géologique (en jaune) et leur date de première colonisation durable (en rouge)
(D'après Techer, 2015)

Tableau 1. Caractéristiques géologiques et géographiques de La Réunion et de Maurice

¹ endémisme stricte

(Modifié d'après Baider et al. 2010)

Caractéristiques	La Réunion	Maurice
Latitude S	21°07'	20°10'
Longitude E	55°25'	57°30'
Superficie (km ²)	2512	1865
Altitude maximale (m)	3070	828
Age estimé (Ma)	2 ± 0,05	8,9 ± 0,17
Nombre d'espèces (% d'endémiques) ¹	550 (30%)	691 (39%)

Le troisième enjeu scientifique est la compréhension des mécanismes évolutifs (structuration des populations, spéciation) des espèces présentes au sein d'îles océaniques tropicales. En effet, les îles, de par leur importante biodiversité et les pressions environnementales fortes qui y sont présentes, constituent des laboratoires naturels de choix pour comprendre ces mécanismes (Warren et al., 2015). Les diversités génétiques de nombreuses espèces d'insectes ont déjà été étudiées à La Réunion, révélant des patrons de structuration intéressants (Amouroux et al., 2013; Jacquard et al., 2013; Techer et al., 2014; Virgilio et al., 2013). L'étude d'un nouveau modèle (*O. palus*), appartenant à un sous-ordre jusqu'à lors jamais étudié à La Réunion, constitue une contribution dans l'optique de mieux comprendre les phénomènes évolutifs en milieux insulaires. De plus, les îles sont d'intéressants modèles pour l'étude des phénomènes d'invasion (O'Dowd et al., 2003). Le cas d'*O. palus* constitue ainsi un exemple original d'étude dans ce contexte.

Cadre et modèles d'étude

La zone d'étude : les îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien

Le Sud-Ouest de l'Océan Indien (SOOI) abrite plusieurs îles océaniques et continentales (Figure 1). Notre étude s'est principalement concentrée sur La Réunion et Maurice (même si la recherche d'individus d'*O. palus* a également concerné l'archipel des Comores).

La Réunion et Maurice : conditions climatiques et géologiques

Îles océaniques situées dans le bassin ouest de l'Océan Indien, La Réunion et Maurice appartiennent (avec Rodrigues) à l'archipel des Mascareignes. Elles n'ont jamais été reliées à une masse continentale et se distinguent par leur origine volcanique dépourvue de passé biologique, contrairement aux îles continentales (Madagascar) qui ont, ainsi, hérité du patrimoine des terres dont elles se sont détachées. La Réunion et Maurice sont distantes respectivement de 900 et 1500 km des côtes Est de Madagascar (Figure 2). Ces deux îles ont été formées par un volcanisme de point chaud, encore actif à La Réunion avec le Piton de la Fournaise (Bonneville et al., 1988; Faure, 2013). Selon la datation des laves les plus anciennes, l'âge de La Réunion est estimé à $2 \pm 0,05$ millions d'années (Ma) et celui de Maurice à $8,9 \pm 0,17$ Ma (McDougall, 1971; McDougall and Chamalaun, 1969; Moore et al., , 2011).

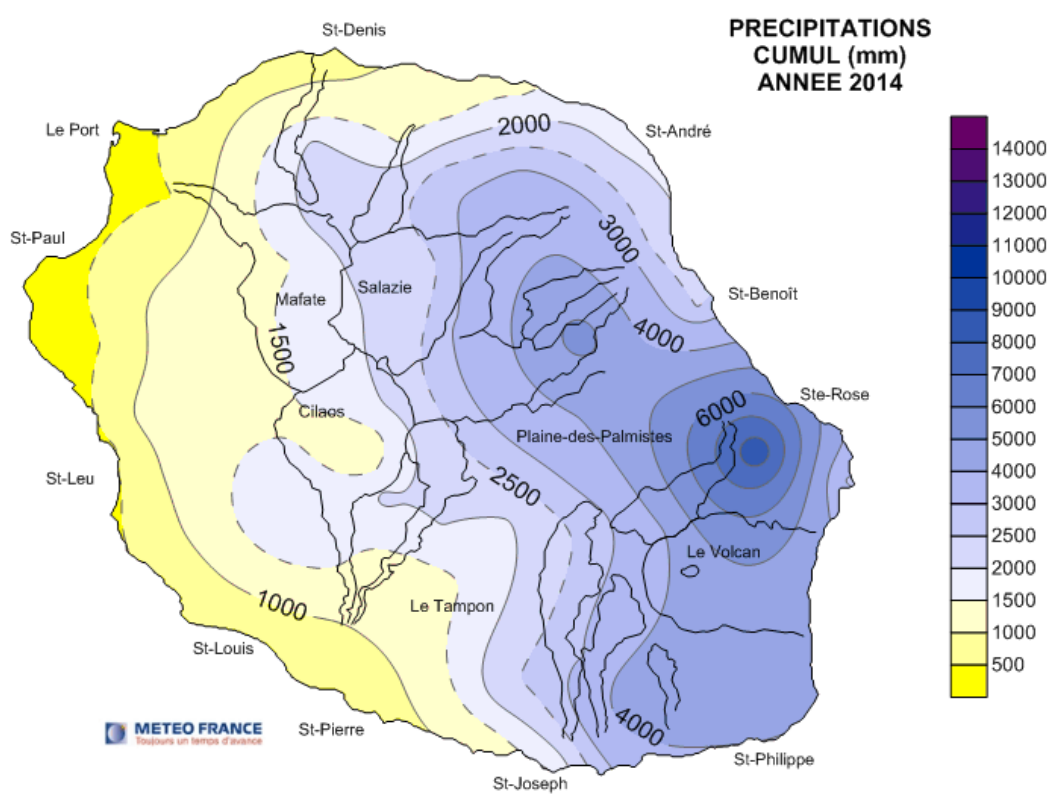


Figure 3. Pluviométrie cumulée sur l'année 2014 à La Réunion

Données calculés sur 47 postes d'observations

(D'après Météo France, 2015)

Ces deux îles se différencient par leur âge et leur relief (Table 1). Cependant, elles sont soumises au même climat tropical humide qui se caractérise par des températures relativement chaudes toute l'année. Deux saisons peuvent néanmoins être distinguées : la saison chaude et humide (de novembre à mars) et la saison fraîche et sèche (d'avril à octobre). Ce climat est fortement influencé par les alizés, des vents d'Est qui, lorsqu'ils entrent en contact avec des obstacles topographiques, entraînent d'importantes précipitations. De plus, les îles du SOOI sont soumises à des épisodes cycloniques exceptionnels se formant à la surface des océans pendant la saison chaude. Ces cyclones ou dépressions tropicales, d'intensité et d'envergure variables, associent des vents violents (rafales pouvant atteindre 200 km/h) et des précipitations exceptionnelles.

La Réunion dont le relief est élevé et globalement orienté nord-sud, subit une asymétrie climatique entre l'est et l'ouest très marquée. Les gradients de pluviosité sont très forts, de 550 mm au Port (région Ouest) jusqu'à 9000 mm à Takamaka (région Est). Sur la façade sous le vent (Ouest), sont relevées pendant la saison des pluies de novembre à mars des hauteurs de précipitations de 100 à 300 mm par mois, contre moins de 100 mm par mois en saison sèche d'avril à octobre, avec les mois de juillet à octobre qui sont les plus secs (moins de 50 mm mensuel). Sur la façade au vent (est), la moyenne de pluviométrie annuelle est de 4000 mm sur le littoral et peut atteindre 9000 mm à mi-pente (Figure 3) (Météo France, données 2012). Les reliefs et l'altitude entraînent également sur cette île un fort gradient de température. Le gradient thermique est de $-0,65^{\circ}\text{C}$ pour 100 mètres de dénivellation. La forte influence océanique et la latitude relativement basse expliquent des températures moyennes assez tempérées et d'assez faibles amplitudes : moyennes de température variant en saison chaude de 21 à 31°C sur le littoral et de 10 à 24°C à 1000 m, contre 17 à 28°C sur le littoral et de 8 à 10°C à 1000 m en saison fraîche (Météo France, données 2012). A Maurice, le relief est moins marqué, mais il existe de fortes variations pluviométriques entre le plateau central (jusqu'à 5000 mm/an) et la côte ouest (environ 1000 mm/an). Les températures moyennes sont de $24,7^{\circ}\text{C}$ en saison chaude et de $20,4^{\circ}\text{C}$ en saison fraîche (Mauritius Meteorological Services, données 2014).

Des îles constituant un hot spot de biodiversité

Madagascar et les archipels alentours (Mascareignes, Comores et Seychelles) sont considérés comme l'un des 35 "points chauds" de biodiversité, zones les plus riches en espèces endémiques

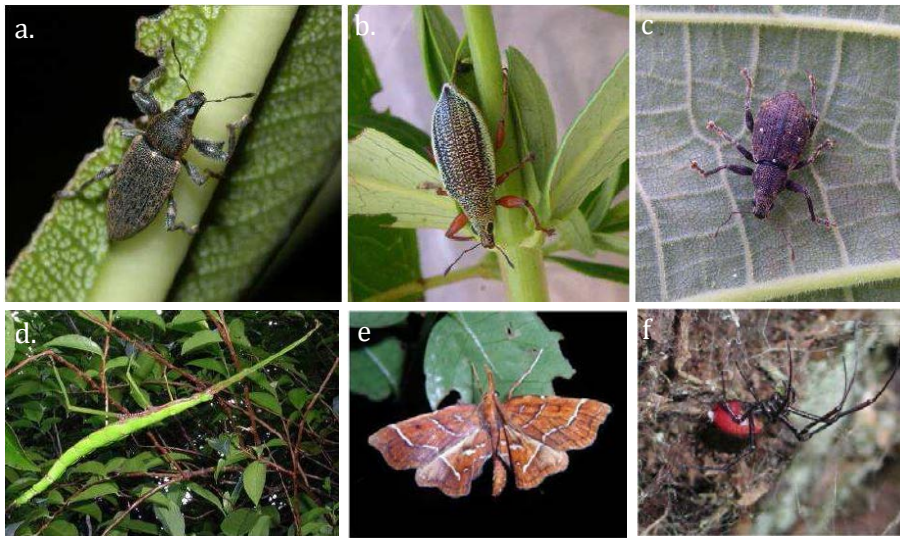


Figure 4. Illustration de la diversité d'invertébrés présents à La Réunion

- a. Charançon cratopiné endémique des Mascareignes (*Cratopus humeralis*)
 - b. Charançon cratopiné endémique des Mascareignes (*Cratopus somptuosus*)
 - c. Charançon cratopiné endémique des Mascareignes (*Cratopopsis bistigma*)
 - d. Phasme géant endémique de La Réunion (*Monandropoda acanthomera*, Phasmidae)
 - e. Papillon endémique de La Réunion (*Cymoriza upupalis*, Pyralidae)
 - f. Araignée endémique de la forêt humide de La Réunion (*Nephilingys borbonica*, Tetragnathidae)
- (Photographies : J. Rochat (Insectarium de La Réunion))

mais aussi les plus menacées par la disparition des habitats naturels originaux (Myers et al., 2000). La Réunion dispose d'une flore particulièrement riche en espèces endémiques. En effet, sur les 835 espèces d'angiospermes indigènes qui y sont recensés, 18,6 % sont endémiques régionales et 28 % sont endémiques strictes de l'île (Bénard et al., 2008). Par ailleurs, vingt des trente genres de plantes endémiques des Mascareignes sont présents à La Réunion. La faune de l'île est également riche, avec notamment quatre espèces d'oiseaux endémiques. La faune invertébrée est partiellement décrite, mais l'on estime qu'un tiers de l'entomofaune est endémique à l'île (Figure 4). Sur les 2000 espèces d'insectes présentes à La Réunion, on en compte 900 appartenant à l'ordre des Coléoptères (400 espèces endémiques) (Gomy and Paulian, 2000), 560 espèces de Lépidoptères (190 endémiques) (Martiré and Rochat, 2008), ou encore plus de 40 espèces d'Orthoptères (plus de 50% d'espèces endémiques). L'on estime que 5000 espèces d'insectes seraient présentes à La Réunion (Bénard et al., 2008; Quilici et al., 2002) ainsi que 500 espèces d'araignées, dont 25 % d'espèces seraient endémiques (Ledoux, 2007, 2004).

Maurice présente également une haute diversité en espèces végétales indigènes, avec 670 espèces d'angiospermes, dont 315 sont endémiques dont 200 d'entre elles sont menacées d'extinction (Mauritian Wildlife Foundation, unpublished data). Maurice dispose d'une faune endémique assez riche : une espèce de chauve-souris, 9 espèces d'oiseaux, 12 reptiles (Cheke and Hume, 2008; Cole, 2009; Fisher, 2005; Griffiths and Florens, 2006). La faune invertébrée y est peu décrite, mais près de 744 espèces endémiques sont recensées (Motala et al, 2007) : neuf espèces de fourmis (Fisher, 2005), quatre espèces de papillons (Williams, 2007), 45 espèces d'escargots terrestres (Griffiths and Florens, 2006), 474 espèces de scarabées, etc.

La Réunion est l'une des îles les mieux préservées de la zone, avec 25% des habitats encore intègres, grâce au relief et à son jeune âge géologique (Strasberg et al., 2005). A Maurice, la déforestation a été plus forte, avec seulement 5 % de forêt originelle restante (Page and D'Argent, 1997; Safford, 1997), dont 2% sont qualifiés de haute qualité avec plus de 50% de plantes endémiques (Florens et al., 2012).

L'agriculture : une monoculture cannière laissant de plus en plus de place aux cultures fruitières

L'agriculture réunionnaise s'étend sur une Surface Agricole Utile (SAU) de 42200 ha qui se partage entre quatre grands secteurs : la culture de la canne à sucre, les cultures fourragères,

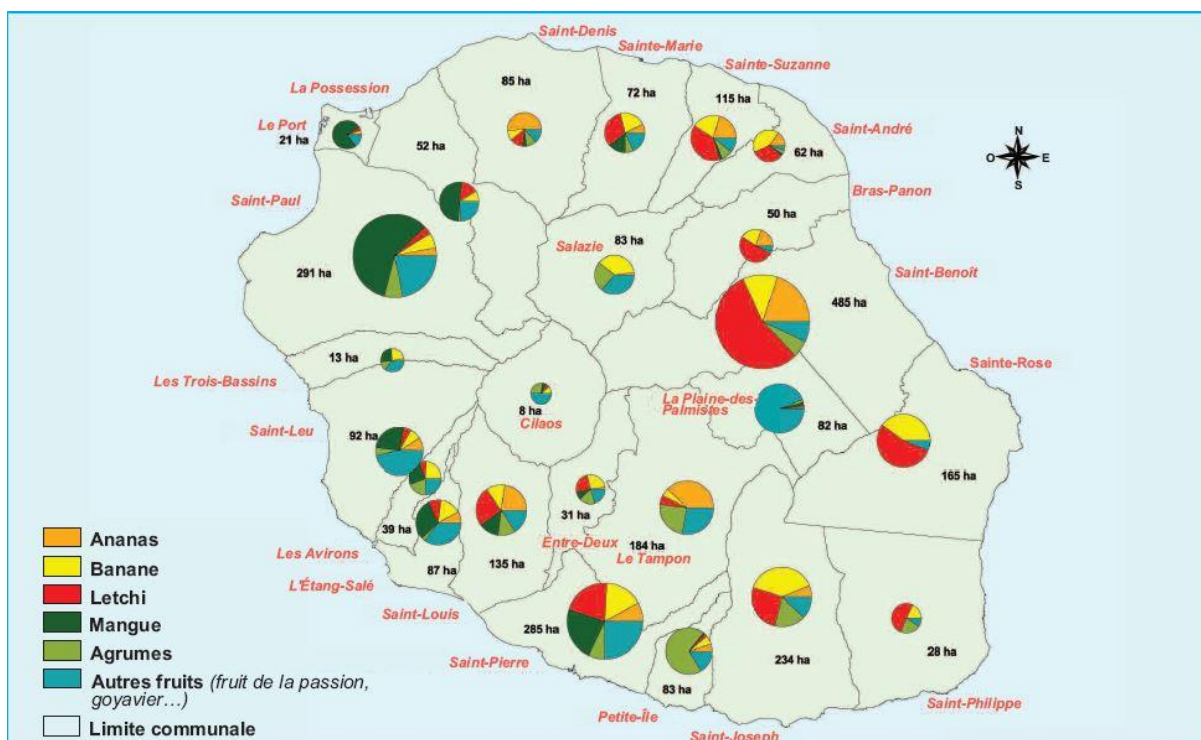


Figure 5. Répartition communale des cultures fruitières à La Réunion
 Les surfaces sont des surfaces par commune
 (D'après les données du recensement agricole 2010)

les cultures maraîchères et les cultures fruitières. La culture cannière occupe 58 % de la SAU, alors que les surfaces fourragères s'étendent sur 10775 ha (26% de SAU). Les surfaces de cultures maraîchères et fruitières sont plus modestes avec 6 et 7 % de la SAU. Cependant, les fruits occupent une place de plus en plus importante au sein de l'agriculture réunionnaise. Avec plus de 40 espèces produites, leurs cultures s'étendent sur plus de 2700 ha et représentent une valeur marchande de l'ordre de 60 millions d'euros (soit 15 % de la production totale) (Figure 5). Cette production locale couvre environ 70 % des besoins alimentaires en frais et 5 % des besoins pour la transformation. La production fruitière s'organise autour des vergers permanents (letchi, mangue, agrume, etc.), ou semi-permanents (ananas, banane, fruit de la passion). Les vergers réunionnais se composent principalement d'exploitations ayant entre un et dix ha de fruits (75 % de la surface fruitière). Les exploitations produisant des fruits sont fortement diversifiées. En effet, pour 57 % d'entre elles, les fruits représentent une diversification de leur production principale (canne, élevage, maraîchage). Les principaux fruits produits sont l'ananas (15800 t), la banane (9650 t), les agrumes (8400 t), le letchi (2700 t) et la mangue (1900 t) (Données Chambre d'Agriculture de La Réunion, 2014). Une partie de la filière fruitière est organisée (14% de la surface cultivée), alors que le reste est en filière indépendante. Concernant les exportations, l'ananas Victoria est le fruit le plus exporté suivi du letchi, de la mangue et des fruits de la passion.

En ce qui concerne Maurice, jusqu'aux années 1970, l'agriculture était le pilier de l'économie mauricienne, pour ensuite être rétrogradée derrière le tourisme, le textile, les finances ou les technologies de l'information. L'agriculture mauricienne couvre aujourd'hui environ 44% (80 000 ha) des terres arables (Ministry of Agro Industry and Food Security, données 2002). Comme à La Réunion, la production sucrière domine le secteur agricole mauricien (90 % de la SAU) et contribue pour 57 % du produit intérieur brut national. Le thé (1%) et le tabac sont les deux autres principales productions, qui se répartissent sur 1760 ha. Les cultures vivrières et maraîchères occupent plus de 8 400 ha (Ministry of Finance and Economic Development, données 2014) et sont parfois réalisées en rotation de courte durée ou en interligne avec la canne à sucre. Les cultures fruitières se concentrent sur la banane, l'ananas, le letchi et la mangue, et comblent 50 % des besoins locaux. D'une culture orientée pour ces besoins locaux, l'agriculture mauricienne s'ouvre progressivement au marché international et se retrouve confrontée à des défis agro-environnementaux. De nouvelles stratégies sont mises en place dans le secteur sucrier et dans les autres secteurs : (i) l'industrie de la canne à sucre est entrée depuis 2005 dans un processus de restructuration et d'amélioration des services déjà

disponibles de manière à répondre aux nouveaux besoins des acteurs du secteur cannier ; (ii) les autres secteurs fruitiers et maraîchers s'orientent vers des productions plus diversifiées, plus performantes, et respectueuses de l'environnement pour répondre aux demandes touristiques et locales grandissantes en matière de produits "sains pour la santé".

Les autres îles : l'archipel des Comores

L'archipel des Comores (Les Comores) se compose de quatre îles : la Grande Comore, Anjouan, Mohéli et Mayotte et se situe à environ 300 km au Nord-Ouest de Madagascar (Figure 2). Cet archipel constitue le deuxième groupe d'îles océaniques le plus ancien de la zone SOOI. Mayotte serait l'île la plus ancienne avec une formation datant de 7,7 à 15 Ma ; Anjouan se serait formée il y a 11,5 et 3,9 Ma, Mohéli serait née il y a 5 Ma et la Grande Comore entre 0,5 et 0,13 Ma (Emerick and Duncan, 1982; Montaggioni and Nougier, 1981; Nougier et al., 1986).

L'origine géologique de l'archipel fait encore débat mais des travaux récents de Michon (in press.) réfutent l'hypothèse d'un volcanisme de "point chaud" et avance une formation datant de 20 Ma pour Mayotte et de 10 Ma pour les trois autres îles.

La mangue

La mangue, 2^{ème} culture fruitière tropicale mondiale

Le manguier est cultivé dans beaucoup de parties du globe, particulièrement dans les pays tropicaux. Hors des tropiques, quelques régions au climat favorable comme l'Espagne, l'Israël, la Floride ou l'Afrique du Sud (Litz, 2009) produisent également de la mangue.

Ces dernières années, la production, le marché et la consommation mondiale de mangues ont fortement augmenté, en raison de leur attrait nutritionnel. Plus de 103 pays cultivent le manguier à des fins commerciales. La mangue est ainsi la deuxième production mondiale de fruits tropicaux, derrière la banane, en termes de production et de superficie. Avec une production de 31,7 millions de tonnes en 2009, elle représente 39% de la production mondiale de fruits tropicaux (FAOSTAT, 2015). En y intégrant l'ensemble des fruits, la mangue occupe la 5^{ème} place après la banane, l'orange, la pomme et la poire (FAOSTAT, 2009). En valeur (US\$) en 2010, la mangue est la 20^{ème} production mondiale, toutes filières agricoles confondues et la 12^{ème} de la filière alimentation d'origine végétale (FAOSTAT, 2011). Soixante-neuf pourcent de la production mondiale de mangues est assurée par 5 pays (Inde,

Chine, Thaïlande, Mexique et Indonésie). Avec quatre de ces cinq pays auxquels s'ajoutent notamment le Pakistan et les Philippines, le continent asiatique occupe la place de principal producteur de mangues (74% de la production mondiale). L'Amérique latine et les Caraïbes représentent 14%, l'Afrique 11% et le reste est produit en Océanie, Amérique du nord et Europe. L'Inde est le principal pays producteur avec plus d'un tiers de la production mondiale. Bien que la mangue soit consommée majoritairement dans les pays de production (environ 90% des fruits tropicaux sont consommés localement), l'exportation de la mangue représente plus de 900 000 tonnes en 2005. Le Mexique (22.6%) et l'Inde (20.3%) sont les principaux pays exportateurs (FAOSTAT, 2009).

La mangue, une origine asiatique, une diffusion subtropicale

Le manguier, *Mangifera indica* L., appartient à la famille des Anacardiaceae qui comprend environ 600 espèces réparties en 70 genres (Watson and Dallwitz, 1992). Les espèces de cette famille sont essentiellement présentes dans les régions tropicales et subtropicales.

Le genre *Mangifera*, auquel appartient le manguier, compte 69 espèces qui sont naturellement présentes dans les régions tropicales d'Asie du Sud-Est, mais le cœur de la zone de distribution correspond à la péninsule de Malaisie, Bornéo et Sumatra, avec 29 espèces présentes (Bompard, 1993). Le manguier semble originaire de la région Indo-Birmane qui correspond à la frontière ouest de la zone de distribution du genre *Mangifera*. Son nom d'espèce ("indica" qui signifie "de l'Inde") fait référence à cette origine.

La domestication du manguier a eu lieu en Inde il y a plus de 4000 ans (De Candolle, 1884; Mukerjee, 1953). Deux zones de domestication sont reconnues : la première, pour des variétés monoembryonnées dans les régions subtropicales de l'Inde et la seconde pour des variétés polyembryonnées dans les régions tropicales du Sud-Est asiatique (Sud du Vietnam, Indonésie, Philippines) (Mukherjee, 1972; Subramanyam et al., 1975). Aujourd'hui, plus de 1000 variétés de manguiers existent.

La diffusion du manguier s'est ensuite déroulée progressivement dans les différents continents et pays tropicaux et subtropicaux (Litz, 2009). Elle commence en Asie profitant de l'expansion de l'hindouisme et du bouddhisme où le manguier a une place importante. Au 7^{ème} siècle, le manguier est déjà présent de la Chine à l'Iran. L'arrivée sur le continent africain (côte Est)

Stade A : repos végétatif, bourgeons végétatifs non gonflés



Stade B1

Gonflement du bourgeon, sans ouverture des écailles



Stade B2

Début d'ouverture du bourgeon, feuilles serrées



Stade C

Ouverture du bourgeon, feuilles écartées



Stade D

Début d'élongation de l'unité de croissance, pétioles orientés à environ 45°, limbes pliés par rapport à la nervure centrale



Stade E

Elongation de l'unité de croissance, pétioles orientés à environ 90°, limbes à demi ouverts par rapport à la nervure centrale et commençant à retomber



Stade F

Fin de l'élongation de l'unité de croissance, pétioles orientés à environ 135°, limbes ouverts par rapport à la nervure centrale et retombant



Stade G

Fin de l'élongation de l'unité de croissance, décoloration et remontée des feuilles, pétioles orientés à environ 90°



Stade H

Unité de croissance adulte, pétioles orientés à environ 45-60°, limbes verts

Figure 6. Stades végétatifs du manguiers (*Mangifera indica* L.)
(D'après Dambreville, 2012 et Amouroux, 2013)

a lieu au 10^{ème} siècle depuis le Moyen-Orient. Les 15^{ème} et 16^{ème} siècles se caractérisent par une forte expansion, impliquant les Portugais et les Espagnols qui transportent le manguier de leurs colonies indiennes et philippines vers l'Afrique et l'Amérique centrale et du Sud, et notamment au Mexique, actuellement 5^{ème} pays producteur de mangues. Au 18^{ème} siècle, l'expansion se poursuit et atteint les Caraïbes (La Barbade, République Dominicaine et Jamaïque) depuis le Brésil. Certains pays ont eu des introductions multiples, comme les Antilles françaises (Duval et al., 2006) et le Mexique dont des variétés proviennent des Caraïbes (Morton, 1987).

La Floride, en menant une campagne d'introduction, de création et de sélection de variétés est devenue au 20^{ème} siècle, un important centre de diversification. Les principaux cultivars actuellement commercialisés (Tommy Atkins, Kent, Keitt, Irwin, Zill, Haden, Palmer, Cogshall, etc.) (Campbell, 1992) y ont été produits, puis diffusés dans de nombreux pays producteurs (Brésil, Israël, Australie) (Litz, 2009).

Phénologie du manguier

Le manguier est un arbre pouvant atteindre 30 à 50 m de hauteur et vivre plus de 100 ans. Sa culture est bien adaptée à un climat tropical chaud à mousson, avec une saison sèche prononcée (Litz, 2009). La croissance du manguier alterne des phases de croissance (flush) au niveau des bourgeons apicaux et latéraux et des phases de repos (Davenport and Nuñez-Elisea, 2009).

Les phases de croissance végétative, qui ont lieu entre une à quatre fois par an et par branche, permettent le développement d'unités de croissance qui se caractérisent par l'apparition de 10 à 20 nouvelles feuilles. Ce développement (débourrement du bourgeon jusqu'à l'élongation complète), qui peut se décomposer en huit stades phénologiques (Figure 6) (Dambreville, 2012), dure trois à six semaines (Whiley et al., 1991).

La floraison est stimulée par les basses températures dans les régions subtropicales (mois d'hiver) alors que l'âge de la dernière unité de croissance semble plus important dans les climats chauds (Davenport, 2003, 2000; Van der Meulen, 1971). Dans ces régions, la floraison peut être déclenchée par des apports en nitrate de potassium (KNO₃) (Barba, 1974; Davenport, 1993; Nuñez-Elisea, 1985; Protacio, 1999). L'étalement de la floraison est fortement influencé par l'intensité des faibles températures. Des températures très basses (3-10 °C) provoquent, environ un mois après l'exposition, une floraison groupée. Des



Stade B1

Bourgeon gonflé :
Forme d'ogive, vert clair,
écailles protectrices non
ouvertes



Stade B2

Début d'ouverture du
bourgeon :
Les écailles s'écartent au
sommet du bourgeon,
apparition de l'inflorescence
(bractées)



Stade C

Ouverture du bourgeon :
Les écailles sont
complètement écartées et
chutent, bractées de
l'inflorescence bien
visibles



Stade D1

Début de l'élongation de
l'inflorescence :
Bractées toutes présentes
et axes secondaires
parallèles à l'axe principal
de l'inflorescence



Stade D2

Début de l'élongation de
l'inflorescence :
Les axes secondaires
s'écartent de l'axe
principal à partir de la
base de l'inflorescence,
chute des bractées



Stade E

Elongation de
l'inflorescence :
Axes secondaires bien
visibles et tous écartés de
l'axe principal, pas de
fleur ouverte



Stade F

Floraison :
Présence de fleurs
ouvertes et de boutons
floraux sur
l'inflorescence :
De la 1^{ère} fleur qui s'ouvre
à la dernière fleur encore
ouverte



Stade G

Fin de floraison :
Plus de fleurs ouvertes,
nombreuses fleurs sèches
et présence de petits fruits
verts

Figure 7. Stades reproducteurs du manguier (*Mangifera indica* L.)
(D'après Dambreville, 2012 et Amouroux, 2013)

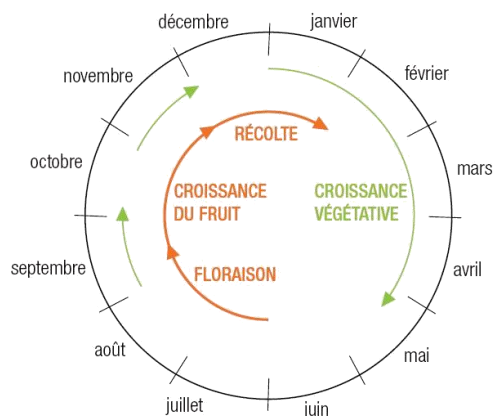


Figure 8. Cycle phénologie du manguier (*Mangifera indica* L.) de la variété Cogshall à La Réunion
Cycle établi à partir d'observations sur des plants dans la zone Sud de l'île (St-Pierre)
(D'après Vincenot et Normand, 2009)

températures entre 10 °C et 18 °C provoquent une floraison plus étalée (Davenport and Nuñez-Elisea, 2009). Les fleurs sont groupées en inflorescences situées à l'extrémité des branches. Ces inflorescences sont des structures ramifiées de taille, de forme, de couleur, et de nombre de fleurs (plusieurs centaines à plusieurs milliers) variables selon la variété. Les fleurs sont mâles (le pistil est avorté avec une seule étamine fonctionnelle) ou hermaphrodites (le pistil est fonctionnel). Elles sont peu nectarifères et mellifères, et elles sont, en grande partie, fécondées par des mouches, des thrips et des abeilles (Litz, 2009). Les inflorescences se développent en huit stades phénologiques (Dambreville, 2012) (Figure 7). Un asynchronisme entre les arbres d'une parcelle et à l'échelle de l'arbre est noté pour le développement des unités de croissance et pour la floraison (Vincenot and Normand, 2009).

A La Réunion, le cycle phénologique des deux variétés commerciales est influencé par le climat (température et pluviométrie) et par des caractéristiques intrinsèques à la plante (production de l'année précédente, position et âge des unités de croissance). De manière générale, le calendrier phénologique de la variété Cogshall se déroule de la manière suivante (Figure 8) : la floraison a lieu durant l'hiver austral, de juillet à septembre, et la récolte s'étale de début décembre à fin janvier ; la croissance végétative commence dès la fin de la floraison, s'intensifie après la récolte pour se terminer en avril-mai ; le repos végétatif a lieu au début de l'hiver austral et précède la prochaine floraison (Vincenot and Normand, 2009). La variété José, peut réaliser jusqu'à trois périodes de floraison entre juillet et octobre.

Les asynchronismes de croissance et de floraison entre arbres et au sein des arbres sont également observés à La Réunion et représentent un problème majeur pour la gestion des ravageurs des inflorescences. Une floraison étalée offre une fenêtre d'action plus grande aux ravageurs des fleurs et des fruits. L'étalement de la floraison augmente généralement avec l'âge du verger : de 10-11 semaines pour des jeunes arbres (quatre ans) à 16-18 semaines pour des arbres âgés (8 ans) de la variété Cogshall. L'asynchronisme de croissance permet la présence de pousses végétatives dans un verger quasiment toute l'année. De récents travaux ont mis en évidence des liens entre ces deux types d'asynchronismes (Dambreville et al., 2013). Pour la variété José, la floraison est très hétérogène au sein du même arbre. Plusieurs floraisons et fructifications s'enchaînent (on parle de première, deuxième et troisième floraisons), étalant la floraison jusqu'en octobre (Vincenot and Normand, 2009).

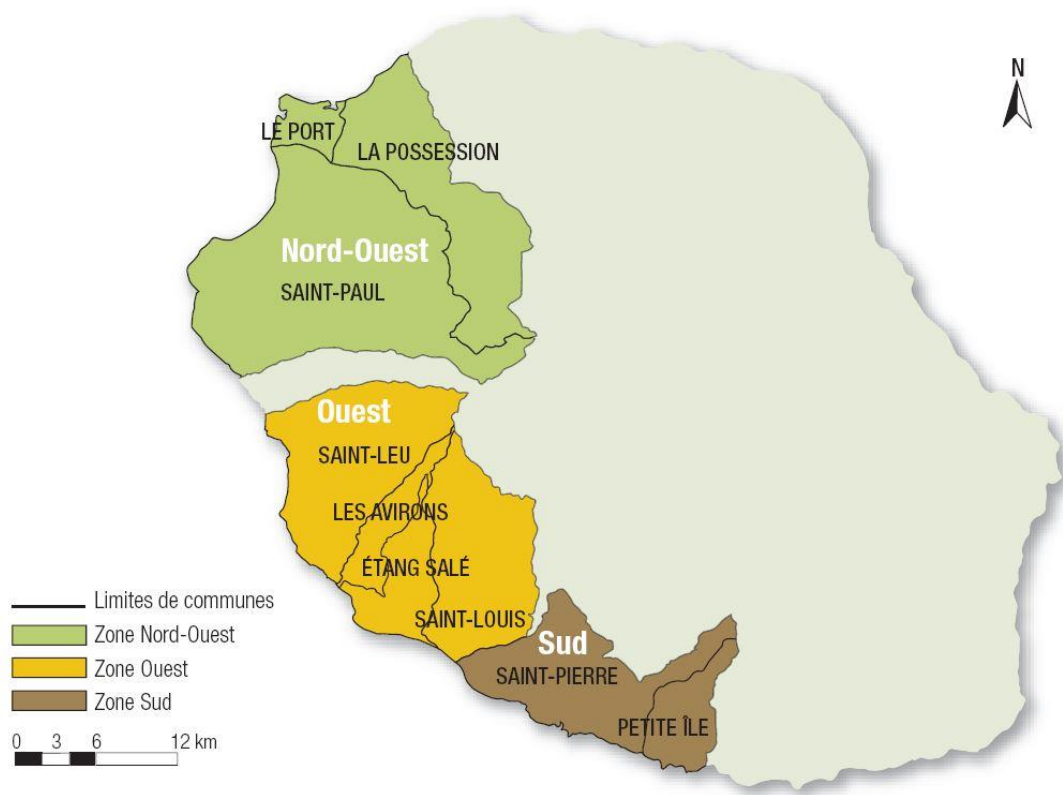


Figure 9. Répartition des trois principales zones de culture du manguier (*Mangifera indica* L.) à La Réunion (D'après Vincenot et Normand 2009)

La mangue à La Réunion : historique et culture

La grande majorité des informations fournies dans cette partie sont extraites de deux ouvrages de référence sur la culture de la mangue à La Réunion que sont la "Production Fruitière Intégrée" (Vincenot and Normand, 2009), et "Dossier technico-économique de la mangue" (Insa et al., 2002).

La famille des Anacardiaceae est représentée à La Réunion par neuf espèces dont une espèce indigène (*Poupartia borbonica* J.F. Gmel.) et huit espèces exotiques (*Anacardium occidentale* L., *Mangifera indica* L., *Poupartia caffra* (Sond.), *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Spondias cytherea* Sonnerat, *Spondias mombin* L., *Rhus longipes* Engl., *Sorindeia madagascariensis* Thouars ex DC.). Certaines de ces espèces présentent un intérêt agricole : baie rose ou faux poivrier (*S. terebinthifolius*), prune de cythère (*S. cytherea*), anarcardier (*A. occidentale*). L'omniprésence sur l'île du faux poivrier (aussi connu sous l'appellation de "baies roses") et du faux poivrier blanc (*R. longipes*) s'explique grandement par leur caractère invasif (IUCN) et seul le manguier fait l'objet d'une culture structurée en vergers.

Seul représentant du genre *Mangifera* à La Réunion, le manguier y est arrivé la première fois en 1770 par l'intermédiaire d'arbres provenant de Goa (Inde). Ce n'est que deux cents ans plus tard, que la culture du manguier entre dans un processus d'intensification, se caractérisant, entre 1970 et 2000, par une multiplication par six de la surface cultivée (de 50 ha à 300 ha). L'objectif visé de cette intensification est double : la satisfaction des besoins du marché local et le développement du marché de l'exportation haut de gamme. De ce fait, la gamme variétale existante, principalement constituée de variétés d'origine indienne (José), naturellement hybridées et sélectionnées par les agriculteurs et les passionnés, fut élargie par l'apport de diverses variétés d'origine floridienne (Cogshall, par exemple). Il en résulte la présence à La Réunion, d'une cinquantaine de variétés recensées. Néanmoins, seulement deux variétés (José et Cogshall) sont bien représentées (plus de 80% des vergers) (Figure 9). La variété José, fortement appréciée de la population, occupe 50 % de la superficie plantée alors que la seconde variété d'origine américaine s'étend sur les quelques 30% restants. Grâce à ses qualités répondant aux standards des marchés internationaux, la variété Cogshall est celle majoritairement exportée, bien que les quantités restent faibles (moyenne 110 tonnes / an).



Figure 10. Fruits des deux principales variétés de manguier (*Mangifera indica* L.) cultivées à La Réunion
 a. Variété José b. Variété Cogshall
 (Photographies : a. Frédéric Normand-CIRAD ; b. C. Ajaguin Soleyen-CIRAD)

Table 2. Principaux ravageurs du manguier à La Réunion, organes attaqués et importance en termes de dégâts générés
 (D'après Normand et al. 2011)

Partie attaquée	Ravageur	Nom scientifique	Importance
Inflorescences	Cécidomyie des fleurs	<i>Procontarinia mangiferae</i>	Majeure
Inflorescences	Punaise	<i>Orthops pakus</i>	Majeure
Inflorescences	Thrips	<i>Scirtothrips aurantii</i>	Mineure
Inflorescences	Thrips	<i>Selenothrips rubrocinctus</i>	Mineure
Fruits	Mouche des fruits	<i>Bactrocera zonata</i>	Majeure
Fruits	Mouche des fruits	<i>Ceratitidis rosa</i>	Majeure
Fruits	Mouche des fruits	<i>Ceratitidis capitata</i>	Majeure
Parties végétatives	Cécidomyie des feuilles	<i>Procontarinia matteiana</i>	Mineure
Parties végétatives	Cochenille	<i>Icerya seychellarum</i>	Mineure
Parties végétatives	Cochenille	<i>Coccus mangiferae</i>	Mineure
Parties végétatives	Cochenille	<i>Aulacaspis tubercularis</i>	Mineure
Parties végétatives	Cochenille	<i>Pseudoanidia trilobitiformis</i>	Mineure
Parties végétatives	Cochenille	<i>Ceroplastes sp.</i>	Mineure

La filière de production s'organise aujourd'hui autour de 350 ha répartis sur près de 150 exploitations (Vincenot and Normand, 2009). Pour des raisons climatiques et sanitaires, elles sont réparties essentiellement sur la côte Ouest de l'île (côte "sous le vent") allant de la commune de la Possession (Nord) à celle de Petite-Île au sud. Leur distribution se caractérise par trois zones de production : le Nord-Ouest, l'Ouest et le Sud. La zone Nord-Ouest, historiquement première zone de production, comptabilise à elle seule, avec les communes de La Possession et Saint-Paul, près de 50 % des exploitations productrices et totalise environ 70 % des surfaces de vergers de manguiers (Figure 10).

La surface des vergers est généralement modeste, puisque près de 60 % des exploitations ne dépassent pas une SAU de trois hectares. De plus, des différences notables de surface moyenne des vergers sont notées entre la zone Nord-Ouest (6,1 ha) et les deux autres zones (Ouest : 2,1 ha ; Sud : 3,1ha). La production, de l'ordre de plus de 3000 tonnes, lors des bonnes récoltes, se regroupe essentiellement entre décembre et février. Des productions précoces, intéressantes pour les agriculteurs en termes de prix de vente et de limitation du développement des maladies fongiques et bactériennes, peuvent être enregistrées entre octobre et novembre. Des récoltes tardives sont aussi possibles et sont la conséquence de la deuxième, voire la troisième, floraison chez certaines espèces ou de vergers situés en altitude. En effet, certaines variétés comme la José présentent des floraisons très étalées, mais pas systématiquement toutes les années.

Les ravageurs du manguiers à La Réunion

Une trentaine espèces d'arthropodes ravageurs est recensée sur les manguiers à La Réunion. Seules six espèces sont recensées de manière régulière et sont considérées comme impactant significativement la culture du manguiers (Table 2) (Amouroux and Normand, 2013; Vincenot and Normand, 2009). Leurs actions ont lieu lors de trois phases phénologiques distinctes du manguiers. Premièrement, lors de leur croissance végétative, les manguiers subissent les attaques d'une cécidomyie des feuilles (*Procontarinia matteiana* Kieffer & Cecconi, 1906) (Diptera : Cecidomyiidae) et de plusieurs espèces de cochenilles. Ces deux ravageurs font généralement peu de dégâts, sans doute maîtrisés par leurs parasitoïdes et prédateurs. Néanmoins, des épisodes de pullulations peuvent avoir lieu comme depuis 2011, où l'explosion démographique d'une espèce de cochenille farineuse (*Icerya seychellarum* Westw.) a eu

Règne	Animal
Embranchement	Arthropoda
Classe	Hexapoda (Insecta)
Sous-Classe	Pterygota
Superordre	Neoptera
Ordre	Hemiptera
Sous-ordre	Heteroptera
Superfamille	Miroidea
Famille	Miridae
Sous-famille	Mirinae
Tribu	Mirini
Genre	<i>Orthops</i>
Sous-genre	
Espèce	<i>palus</i>

Figure 11. Classification taxonomique d'*Orthops palus*

lieu en raison d'un parasitisme en hausse (*Homalotylus eytelweinii* (Ratzeburg)) de son ennemi naturel (*Rodolia chermesina* Mulsant, 1850). Certaines parcelles ont été fortement impactées, mais les "équilibres écologiques" se sont rétablis au bout de quelques mois et les populations de cochenilles ont été par la suite régulées. Deuxièmement, lors de la floraison, trois ravageurs, la Cécidomyie des fleurs du manguier *Procontarinia mangiferae* (= *Erosomyia mangiferae* Felt) (Diptera : Cecidomyiidae), la Punaise du manguier *Orthops palus* et le thrips *Scirtothrips aurantii* Faure (Thysanoptera : Thripidae) peuvent générer des dégâts et des pertes économiques importants. Troisièmement, lors de la fructification, le risque entomologique provient de trois espèces de mouches des fruits (*Ceratitis capitata* (Wiedemann), *C. rosa* Karsch et *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera : Tephritidae) dont les femelles pondent dans les fruits qui deviennent non-commercialisables. La lutte réalisée contre ces ravageurs est essentiellement chimique, avec une seule molécule active, à large spectre, la lambda-cyhalothrine, homologuée contre le thrips et la Punaise du manguier (Vincenot and Normand, 2009).

Les mirides et *Orthops palus*

Les mirides appartiennent à l'ordre des Hemiptera, au sous ordre des Heteroptera, à l'infra-ordre des Cimicomorpha, à la super-famille des Miroidea (Figure 11). Les espèces de miride sont communément appelées "punaises des plantes" ("Plant bugs" en anglais) et plus rarement "capsides" ("capsids" en anglais) (Wheeler, 2001). Les principales caractéristiques biologiques et écologiques sont présentées dans le chapitre 1, sous la forme d'une synthèse bibliographique.

Le genre Orthops

Le genre *Orthops* a été décrit pour la première fois par Fieber en 1858 (Fieber, 1858). Il appartient à la sous-famille des Mirinae et à la tribu des Mirini. Trente-cinq espèces y sont comptabilisées et se répartissent en 2 sous genres (*Orthops* et *Montanorthops*) (Schuh, 2008). La taxonomie du genre n'a pas toujours été claire (synonymie du genre : *Montanorthops* Ghauri, 1978 ; *Verdeius* Linnavuori, 1975) et des changements ont souvent eu lieu. Avant les années 1940, le genre *Orthops* était considéré comme un sous-genre du genre *Lygus*, au même titre que *Lygocoris*, *Agnocoris*, *Stechus*, *Neolygus*, *Apolygus*, et *Taylorilygus* (Kelton



Figure 12. Punaises du genre *Orthops*

a. *Orthops kalmii* (L. 1758) ; b. *Orthops campestris* (L. 1758) ; c. *Orthops basalis* (Costa 1853) ; d. *Orthops scutellatus* (Uhler 1877).

(Photographies : a. Tristan Bantock ; b. Mark Dunkling ; c. Tristan Bantock ; d. Steve Nanz)

1975). Depuis, plusieurs de ces sous-genres sont devenus des genres, réduisant grandement le nombre d'espèces du genre *Lygus*. De nos jours, toutes les espèces de ces genres font partie de ce que l'on appelle le "*Lygus* complex". Les espèces du genre *Orthops* sont présentes en Europe (Hosseini, 2014; Virteiu et al., 2014), en Asie, en Afrique et en Amérique (Schuh, 2008), mais elles restent sous-étudiées, comme une grande majorité des mirides en Europe. Les informations concernant ces espèces se réduisent souvent à des recensements lors d'inventaires ou à des descriptions morphologiques (Hosseini, 2014; Virteiu et al., 2014; Zheng and Lv, 2002), mais peu de données bioécologiques sont disponibles. Les espèces les plus étudiées sont celles des zones tempérées avec *O. kalmii* (Linnaeus, 1758), *O. campestris* (Linnaeus, 1758), *O. basalis* (Costa, 1853) et *O. scutellatus* (Uhler, 1877) (Figure 12). En analysant la base de données des mirides la plus complète à l'heure actuelle (Schuh, 2008), les premières descriptions des espèces du genre *Orthops* sont localisées à 59 % en Afrique, 20 % en Europe, 18 % en Asie, 3 % en Amérique (Annexe 1).

De manière générale, le corps des espèces du genre *Orthops* a une longueur de 3 à 6 mm, et peut avoir des couleurs assez variables (Hosseini, 2014). Les espèces sont connues pour s'attaquer aux Ombellifères (Apiaceae) (Anasiewicz and Winiarska, 1995; Bilewicz-Pawińska, 1970; Galambosi and Svab, 1981; Henry and Lattin, 1987; Obarski, 1961, 1960). Les espèces du genre *Orthops* étudiées sont aussi connues pour montrer une forte préférence pour les fleurs de leur hôte (Wheeler, 2001). En effet, en Pologne par exemple, sur herbe *Heracleum sosnowskyi* Manden. (Apiaceae), les niveaux de populations les plus importants d'*O. kalmii*, *O. campestris* et *O. basalis* se retrouvent lors de la pleine floraison et le début de fructification (Wrzesinska and Wawrzyniak, 2005). Wagner (1974) décrit les espèces du genre *Orthops* comme des espèces phytophages vivant sur des herbes, ou des arbres (à feuilles caduques, pérennes, et aussi des conifères - *Pinus* sp). Il continue en stipulant que ces espèces hibernent au stade œuf ou adulte.

Ci-dessous sont présentées quelques informations bioécologiques sur les espèces du genre *Orthops* les plus étudiées :

O. kalmii (L. 1758) (Figure 12) est présente en Europe, en Asie (Chine, Russie) et est fortement associée aux Ombellifères (Apiaceae) (Schuh, 2008). Ce miride est un ravageur du fenouil en Italie car ces ovipositions peuvent bloquer la circulation de la sève jusqu'aux feuilles (Nuzzaci, 1977). *O. kalmii* peut aussi se retrouver sur des espèces de la famille des Asteraceae, des Fabaceae, des Fagaceae, des Salicaceae et des Brassicaceae (Schuh, 2008).



Figure 13. Adulte d'*Orthops palus* (Taylor, 1947)
(Photographie : Antoine Franck-CIRAD)

***Lygus palus*, sp.n.**

A very small species. Pale brownish-yellow or pale green; ♀ pale throughout, ♂ usually pale throughout but sometimes with pronotum darkly pigmented posteriorly. Second antennal segment not darker at apex (fig. 96). Rostrum to apices of hind coxae. Hemelytron often without markings (fig. 62), except a black spot at apex of cuneus and infuscation with hyaline areas on membrane, but some specimens (particularly ♂♂ having a dark pronotum, but occasionally ♀♀ also) have a vague infuscation at distal end of corium, not extending to costa (fig. 63, which represents the extreme form). Hind femur darkly mottled distally.

Genitalia: laminate process wanting; terminal hook of left paramere with an erect process as in fig. 39.

Dimensions in mm.:—Length: ♂, 3.2; ♀, 3.5. Width of head: ♂ and ♀, 0.9. Width of pronotum: ♂, 1.2; ♀, 1.3.

Type ♂ has pronotum dark except antero-medially and slight infuscation at end of corium similar to fig. 63.

UGANDA; various localities, 1942–1944, 5 ♂♂ (including type) and 6 ♀♀.

This species, regardless of the colour of the pronotum, is readily distinguished from all others dealt with here by its small size, the absence of black or dark pigments at the apex of the second antennal segment, the complete or almost complete absence of markings on the hemelytron, and by the male genitalia.

L. palus appears to be associated principally with flowering trees. It is known to breed on *Anacardium occidentale*, *Mangifera indica*, *Caesalpinia sepiaria*, *Entada abyssinica* and *Triumfetta* sp.

Hitherto this species has been referred to in Uganda as Sp. G.

Figure 14. Première description d'*Orthops palus* par Taylor en 1947

O. campestris (L. 1758) (Figure 12) est présente dans toute l'Europe (sauf aux Açores, aux îles Féroé, en Islande, aux Canaries et à Chypre), en Iran, en Turquie, aux Etats-Unis (Kerzhner and Josifov, 1999; Schuh, 2008). Cette espèce est une spécialiste des Ombellifères, où elle se nourrit des ovaires et des fruits immatures de nombreuses espèces sauvages, notamment en Suède. Elle provoque des dégâts sur plusieurs cultures. D'une part, d'importants dégâts sont notés (dessèchement et brunissement) sur boutons et fleurs de dahlia (*Dahlia spp.*) en Angleterre, ainsi sur le céleri en Pologne (avec *O. kalmii*) (Anasiewicz and Winiarska, 1995). D'autre part, ce miride est suspecté d'être un ravageur de la poire en Europe, en se nourrissant des fruits tout juste formés, entraînant l'apparition de crevasses et de zones "pierreuses" sur les fruits développés (Coutin et al., 1984). Par ailleurs, cette punaise est suspectée de transporter du pollen (faible quantité) en Grande Bretagne (Grace and Nelson, 1981), alors qu'elle serait un vecteur (via ses pièces buccales) d'un champignon pathogène de la carotte (*Stemphylium radicinum*) (Bech, 1967).

O. scutellatus (Uhler, 1877) (Figure 12) a provoqué d'importants dégâts à la culture de carotte en Colombie britannique (Wagner and Slater, 1952) et au fenouil en Nouvelle Ecosse (Brittain, 1919).

Ces espèces ont des préférences variables en matière d'habitats. *O. basalis* et *O. campestris* préfèrent les champs et les jardins alors que *O. kalmii* préfère les zones d'ombres comme les clairières et les berges des cours d'eau.

Orthops palus

Orthops palus (Figure 13) a été décrite pour la première fois, sous la nomination de *Lygus palus*, par Taylor en 1947 en Ouganda. Elle a ensuite été considérée comme *Taylorilygus palus* puis rattachée dans le genre *Orthops* par Linnavuori en 1975. Son premier recensement à La Réunion date de 1974 par Etienne et Roura. *O. palus* n'est jusqu'à présent signalée qu'en Ouganda (Taylor, 1947) et à La Réunion (Etienne and Roura, 1974).

En Ouganda, peu d'informations sont disponibles sur la biologie et l'écologie de l'espèce, ou sur son statut dans la zone. Les travaux de Linnavuori (1975) ne constituent qu'une analyse des échantillons de Taylor. Les travaux de Taylor (1947) (Figure 14) fournissent une description sommaire de l'espèce, avec des informations morphologiques (couleur, taille, description des genitalia, particularités du mâle, critères de différenciation par rapport aux

autres espèces). On trouve trois lignes sur l'écologie de l'espèce : "*L. palus* appears to be associated principally with flowering trees. It is known to breed on *Anacardium occidentale*, *Mangifera indica*, *Caesalpinia sepiara*, *Entada abyssinica* et *Triumfetta sp.*". A La Réunion, l'espèce est communément appelée "Punaise du manguier". Son statut taxonomique est ambigu car trois dénominations différentes sont utilisées pour faire référence à cet insecte (*Lygus palus*, *Taylorilygus palus*, *Orthops palus*).

Elle est décrite comme présente sur le manguier et le letchi (*Litchi chinensis* Sonnerat). Présentée comme un ravageur, des traitements phytosanitaires sont préconisés pour faire face à ses infestations (Vincenot and Normand, 2009).

Le premier recensement d'*O. palus* à La Réunion a été effectué sur les inflorescences de manguier par Etienne et Roura en 1974. Même si ces auteurs font état de dégâts "occasionnels" provoqués par un miride qui pullule sur les inflorescences de manguier, ce n'est qu'en 1996, qu'*O. palus* (à l'époque appelée *Lygus palus*) est clairement présentée comme un ravageur des inflorescences de manguier (Vincenot, 1996). Dans le plan ECOPHYTODOM 2018 établi en 2011, *O. palus* est présentée comme le ravageur numéro un des vergers de manguiers à La Réunion (Côte et al., 2011). Ce classement des ravageurs a été établi par les acteurs de la filière "mangue" de La Réunion (producteurs, techniciens agricoles, responsable des organisations de producteurs). Larves et adultes sont polyphages et piquent les bourgeons, les jeunes pousses et les inflorescences des manguiers afin d'en extraire la sève pour se nourrir (Insa et al., 2002; Normand et al., 2011). *Orthops palus* présente un fort potentiel de destruction des inflorescences, du débourrement jusqu'à la nouaison. Ces attaques sont soudaines et imprévisibles. Elles sont souvent localisées à une partie d'un bassin de production et ne se reproduisent pas systématiquement chaque année. Mais elles peuvent conduire à la destruction rapide, partielle ou totale, de la production (Insa et al., 2002).

Concernant le letchi, malgré des suspicions depuis la fin des années 1990 sur les effets potentiellement néfastes de la Punaise du manguier sur les inflorescences de letchi (Quilici, 1996), ce n'est qu'en 2002, dans la fiche ravageur sur *Taylorilygus palus* réalisée par la Chambre d'agriculture de La Réunion, que la punaise est clairement présentée comme un ravageur du letchi (Annexe 2). Aucun autre document ne le mentionne. De plus, certaines données concernant le statut d'*O. palus* sur le letchi à La Réunion sont contradictoires. En

effet, sur cette fiche de la Chambre d'agriculture, la Punaise du manguier est présentée comme un important ravageur des inflorescences de letchi alors que l'insecte ne figure pas sur la liste des ravageurs du letchi à La Réunion la plus complète à cette époque (Vayssieres, 1997). Cette liste contient néanmoins trois autres espèces de mirides (*Corizidolon notaticolle* Reuter; *Proboscidocoris punctaticollis* Reuter ; *Dagbertus* sp.). Vayssieres (1997) fait état de la présence de cinq espèces de mirides sur des fleurs de letchi, sans en donner les noms d'espèces (trois espèces identifiées et deux non identifiées), mais il stipule l'absence de dégâts sur les inflorescences. Pour le letchi, il n'existe aucune donnée mesurant l'importance des dégâts ou les pertes de rendements liés à ce ravageur. Les méthodes de lutte préconisées sur le letchi et le manguier contre *O. palus* sont des traitements chimiques réalisés sur la canopée des arbres, lorsque les seuils de niveaux de population par inflorescence sont dépassés. Ces seuils sont évalués par battage, sur un support de la taille d'une feuille A4, de deux inflorescences par arbre et ceci répété sur 10 arbres répartis dans tout un verger. Si plus de trois punaises sont retrouvés en moyenne sur un arbre, celui-ci doit subir un traitement localisé. Si plus de cinq des dix arbres échantillonnés présentent en moyenne plus de trois punaises, un traitement de toute la parcelle est préconisé (Insa et al., 2002; Vincenot and Normand, 2009). Ce seuil de nuisibilité de trois punaises par battage a été établi lors de précédents travaux dans une parcelle de manguiers de l'Ouest de l'île (Vincenot, 2003). Ces travaux, dont l'objectif était de mettre en évidence une relation entre le nombre de punaises moyen par battage et le pourcentage de panicules détruites par dessèchement, révèlent "qu'à partir du seuil de trois punaises récoltées par battage, les dégâts peuvent détruire jusqu'à 20 % des panicules (inflorescences de manguier)" (Vincenot, 2003).

Problématique, objectifs scientifiques et questions de recherche

La problématique concernant *O. palus* recouvre deux aspects. D'une part, cette espèce, recensée uniquement en Ouganda et à La Réunion, est peu connue, car elle n'est pas considérée comme ravageur d'importance économique, sauf à La Réunion où aucune étude bioécologique n'a été conduite. Ce manque de connaissances rend délicate la mise en place de méthodes de gestion de ces populations dans les vergers. D'autre part, la lutte chimique jusqu'à maintenant utilisée se révèle peu efficace et présente des conséquences néfastes sur l'environnement et la santé humaine. Il est indispensable et opportun de proposer une gestion

agroécologique des populations d'*O. palus*, à l'heure où la protection agroécologique des cultures s'implante à La Réunion, notamment dans les vergers de manguiers.

L'objectif général de la thèse est l'acquisition de connaissances sur *O. palus*. Les connaissances à acquérir sont d'ordre taxonomique, biologique, écologique et génétique. Cet objectif scientifique principal se décline en plusieurs objectifs spécifiques : (i) caractériser la diversité de mirides présentes dans les vergers de manguiers à La Réunion ; (ii) caractériser le cycle biologique d'*O. palus* et les interactions insecte-plantes ; (iii) étudier sa distribution et sa diversité génétique à La Réunion et dans la zone du SOOI. D'un point de vue pratique et appliqué, l'objectif sera d'utiliser ces connaissances pour concevoir et mettre en œuvre des méthodes de gestion des populations dans le cadre de la protection agroécologique des cultures.

Ces objectifs scientifiques se décomposent selon plusieurs groupes de questions de recherche.

Le premier groupe de questions concerne les mirides des vergers de manguiers à La Réunion et *O. palus* :

- Quelles sont les espèces de mirides présentes dans les vergers de manguiers à La Réunion et quelle place occupe *O. palus* dans cette communauté ?
- Comment les distinguer les unes des autres ?
- *O. palus* est-elle la seule espèce de miride présente en nombre significatif sur les inflorescences de manguiers ?
- Quelle est la distribution géographique d'*O. palus* dans le Sud-Ouest de l'Océan Indien ?

Le deuxième groupe de questions concerne la bioécologie d'*O. palus*, notamment le cycle biologique et les interactions que cette espèce entretient avec les plantes :

- Quelles sont les caractéristiques de son cycle biologique ?
- Quelles sont les plantes sur lesquelles *O. palus* est retrouvée à La Réunion ?
- Comment l'espèce passe-t-elle l'année ?

Le troisième groupe de questions porte sur la diversité génétique et la structuration des populations d'*O. palus* dans les îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien :

- Y a-t-il une ou plusieurs populations d'*O. palus* à La Réunion ? Si plusieurs populations sont recensées, quels facteurs biotiques ou abiotiques structurent ces populations ?

- Dans le cas où *O. palus* est présente dans d'autres îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien, ces populations sont-elles génétiquement différentes de celles présentes à La Réunion ?

Démarche scientifique

La démarche scientifique adoptée pour répondre à ces questions de recherche, mobilise différentes disciplines scientifiques et outils : la taxonomie pour l'identification des espèces de mirides ; la biologie pour l'étude du cycle de vie d'*O. palus* ; l'écologie pour l'étude des interactions entre *O. palus* et ses plantes hôtes ; la génétique pour l'étude de la diversité génétique et de la structuration des populations. Les travaux de thèse, qui se sont déroulés de 2013 à 2015, à La Réunion essentiellement (mais aussi dans certaines îles du SOOI : Maurice, Mayotte et la Grande Comore), ont eu pour fil conducteur cette démarche scientifique, qui a suivi plusieurs étapes.

Dans un premier temps, un travail bibliographique sur les mirides des cultures fruitières tropicales est réalisé. La connaissance des caractéristiques bioécologiques des mirides et les acquis concernant certaines espèces de mirides particulièrement étudiées ou ayant une importance économique reconnue, sont en effet préalables à notre travail de recherche sur *O. palus*.

Une deuxième étape consiste à réaliser un inventaire des différentes espèces de mirides présentes dans les vergers de manguiers à La Réunion entre 2012 et 2014 lors des pics de floraison du manguiers. Il s'agit aussi de déterminer l'abondance relative d'*O. palus* dans les communautés de mirides présentes sur les fleurs de manguiers. Il est en effet nécessaire de vérifier l'omniprésence d'*O. palus* et de confirmer ou d'infirmer qu'il s'agit de l'espèce majoritairement présente (et donc sans doute responsable des dégâts) sur les inflorescences. Dans cette étape, des recherches bibliographiques complémentaires sont effectuées sur les caractéristiques bioécologiques des espèces de mirides recensées dans les vergers, de manière à évaluer le risque qu'elles représentent pour le manguiers. On s'attache ensuite à mettre au point des outils d'identification et de reconnaissance (clé de détermination taxonomique au laboratoire, séquence pour le barcode, fiche de reconnaissance sur le terrain) des différentes espèces de mirides permettant la distinction entre *O. palus* et les autres espèces.

La mise au point d'un élevage est une étape indispensable pour déterminer le cycle biologique de l'espèce et pour acquérir des connaissances sur sa biologie. L'objectif de cet élevage est de fournir des punaises en nombre suffisant pour étudier les caractéristiques biologiques de l'espèce. Les études visent à déterminer les durées des différentes phases du cycle biologique et à évaluer l'influence du substrat de nutrition sur ces durées.

Parallèlement, la recherche *in situ* d'adultes et de larves d'*O. palus* sur diverses plantes, notamment sur des plantes en floraison, sur toute l'île, vise à déterminer les plantes sur lesquelles *O. palus* est présente et à inventorier sa gamme de plantes hôtes (plantes sur lesquelles l'espèce est capable de faire au moins une partie de son cycle). La détermination de ces plantes hôtes et de leur période de floraison permet ainsi d'émettre des hypothèses quant aux modalités de passage de l'année par cette espèce.

Pour compléter les réponses obtenues par les études bioécologiques aux questions de recherche relatives à la polyphytophagie et à l'importante distribution d'*O. palus* dans l'espace, des outils de génétique sont ensuite mobilisés. D'une part, l'étude de la structuration des populations via l'utilisation de marqueurs moléculaires que sont les marqueurs microsatellites (évolution rapide, échelle populationnelle) et les marqueurs du cytochrome oxydase subunit I (évolution lente, échelle spécifique), permet de savoir si plusieurs populations existent et de déterminer s'il existe un facteur structurant les populations, s'il y a par exemple une race d'hôte, déjà observée chez d'autres espèces de mirides. Ces travaux portent à la fois sur la mise au point des marqueurs microsatellites pour l'étude de la diversité nucléaire et sur le séquençage du cytochrome oxydase subunit I pour l'étude de la diversité mitochondriale. La collecte des individus des différentes populations est réalisée par un important échantillonnage à La Réunion en 2013 sur les principales plantes hôtes d'*O. palus* (espèces végétales connues comme hôtes au moment de l'échantillonnage). D'autre part, il est pertinent de vérifier la présence d'*O. palus* dans les îles environnantes de l'Océan Indien. En effet *O. palus* étant signalée en Ouganda, sa présence dans les autres îles du SOOI est fortement suspectée. Il est possible qu'elle n'y ait jamais été déclarée, faute de recherches suffisantes, ce qui nous a amené à effectuer des collectes à Maurice, à Mayotte et aux Comores. De la même manière qu'à La Réunion, un échantillonnage dense est réalisé à Maurice en vue d'une étude sur la diversité nucléaire des populations mauriciennes via les marqueurs microsatellites mis au point. Cette étude fournit un autre cas d'étude de structuration de populations dans des îles volcaniques, et peut apporter, ou non, une

confirmation des patrons de structuration déjà obtenus à La Réunion. Après ces analyses île par île, la diversité nucléaire des populations réunionnaises et mauriciennes peut être analysée de manière globale pour mettre en évidence d'éventuelles populations communes et des échanges entre îles.

A la lumière des résultats acquis dans la thèse, des réflexions peuvent être soutenues sur des axes de discussion scientifiques sur la dynamique dans l'espace et dans le temps d'*O. palus*. Par ailleurs, les résultats alimentent des orientations de gestion agroécologique des populations d'*O. palus* à mettre en place à l'échelle locale, ainsi que sur les mesures de précaution à prendre pour éviter les flux de populations entre les pays de la zone pour éviter tout phénomène invasif. Des perspectives de recherches sont ensuite exposées.

Pour des questions de choix scientifiques et de priorités à assumer, le périmètre de départ de la thèse n'a pas inclus certains domaines scientifiques. Dès le début des travaux de thèse, il est apparu que les interactions insecte-plante ne pourraient être étudiées concernant les aspects de dispersion des insectes ou d'évolution spatiale des populations à l'échelle des agroécosystèmes à base de manguiers. D'une part, la caractérisation et l'évaluation quantitative des dégâts n'ont pas été envisagées, car il est difficile de clairement distinguer les symptômes provoqués par les piqûres de punaise, des symptômes provoqués par d'autres bioagresseurs des inflorescences du manguiers (l'Oïdium (*Oidium mangiferae* Berthet (1914)) notamment). Des travaux préliminaires, réalisés avant la thèse, nous ont confortés dans cette posture. D'autre part, la dynamique spatio-temporelle de l'insecte à l'échelle de l'agroécosystème (caractéristiques de propagation et de dispersion de la punaise) ne peut être étudiée, car les techniques d'échantillonnage (filet à insecte) classiquement utilisées et le plus souvent citées dans la bibliographie pour la collecte des mirides ne sont pas adaptées aux "arbres" (elles ont été mises au point pour la collecte sur des arbustes, comme le cotonnier ou sur des plantes de type herbacé ou de type liane). La mise au point et la validation d'une technique de collecte adaptée nécessiteraient des études conséquentes qui n'ont pas été envisagées dans la thèse.

Organisation du manuscrit

Ce manuscrit de thèse s'organise en quatre chapitres et une discussion générale. Chaque chapitre est composé d'un ou plusieurs articles, acceptés, soumis ou à soumettre à des revues internationales à comité de lecture. Au niveau d'un chapitre, le principe retenu est de rappeler les principaux résultats (en une ou deux pages), puis d'inclure le ou les articles et, éventuellement, des informations complémentaires (planches photographiques par exemple).

Le chapitre I se présente sous la forme d'une synthèse bibliographique sur les mirides des cultures fruitières tropicales. Cette synthèse sert de base à un article intitulé " Mirids (Hemiptera: Miridae) of tropical fruit crops. A Review" actuellement en préparation et qui sera soumis à la revue "International Journal of Pest Management". Cette synthèse présente, dans une première partie, la description des principales caractéristiques des mirides et, dans une seconde partie, les principales connaissances acquises sur plusieurs espèces de mirides d'importance économique sur les cultures fruitières tropicales.

Le chapitre II porte sur l'étude taxonomique des communautés de mirides dans les vergers de manguiers à La Réunion et de la place d'*O. palus* dans cette faune de mirides. Il se compose de deux éléments :

- un article intitulé " Characterization of Mirid assemblages (Heteroptera: Miridae) in mango orchards in Reunion Island and implementation of identification and recognition tools", soumis à la revue "Fruits" ;
- de planches photographiques illustrant les différents stades de développement d'*O. palus* et la variabilité de couleur des adultes.

Ce chapitre renvoie aussi à des fiches regroupant des informations bioécologiques et taxonomiques sur les espèces de mirides recensées dans les vergers de manguiers réunionnais (Annexe 3).

Le chapitre III traite des caractéristiques bioécologiques d'*O. palus*. Il s'organise en deux parties:

- un article intitulé " First results on bioecology of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae)" et soumis à la revue "Arthropod-Plant Interactions". Cet article porte sur la mise au point d'un élevage, la détermination du cycle et des durées de développement d'*O. palus*, l'inventaire des plantes hôtes et l'étude des interactions insecte-plante ;

- des planches photographiques sur *O. palus*, illustrant les caractéristiques morphologiques ainsi que les lieux d'insertion des œufs. Les planches présentent également des larves en condition *in situ* et des symptômes et dégâts provoqués par les attaques d'*O. palus* sur le manguier.

Le chapitre IV regroupe l'ensemble des études sur la diversité génétique et la structuration des populations d'*O. palus*. Ce chapitre se structure autour de trois articles :

- un premier article intitulé " Isolation and Characterization of Eleven polymorphic Microsatellite Markers developed for the mango bug, *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae)", accepté dans la revue "Journal of Insect Science". Cet article porte sur la mise au point et la validation des marqueurs microsatellites pour *O. palus* ;
- un deuxième article intitulé " Population genetic structure of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae) in Reunion Island and bioecological implications", soumis à la revue "Ecology and Evolution". Cet article s'intéresse à la diversité génétique des populations d'*O. palus* à La Réunion ;
- un troisième article intitulé " First description, genetic diversity and structuring of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae) in the south-west Indian Ocean islands " à soumettre à la revue "PlosOne". Il concerne la diversité génétique des populations d'*O. palus* à La Réunion, à Maurice, à Mayotte et en Grande Comore.

La discussion générale de la thèse, qui constitue le chapitre V, est structurée en cinq parties:

- une première partie rappelant les principaux résultats acquis et illustrant les apports de la thèse ;
- une deuxième et une troisième parties de discussion qui traitent, de manière transversale, deux thématiques scientifiques : le passage de l'année par l'espèce étudiée et la diversité génétique d'*O. palus* à l'échelle de la zone du SOOI. Ces deux thématiques permettent, sur la base de l'étude et de la littérature, de proposer des hypothèses et des questions de recherche ou des implications pratiques ;
- une quatrième partie présentant les perspectives de recherches ;
- une cinquième partie correspondant aux applications proposées aux praticiens, suite aux résultats de la thèse.

Il convient d'avoir en tête, à la lecture du manuscrit, que toutes les parties sont liées entre elles et sont interconnectées. De plus, les dispositifs utilisés lors des expérimentations peuvent être

communs à plusieurs études, et les travaux ont été menés de manière concomitante. Les acquis de la thèse sont souvent le fruit des résultats complémentaires des études taxonomiques, biologiques, écologiques et génétiques entreprises dans la thèse, ce qui illustre l'interdisciplinarité du travail réalisé. Divers outils de ces disciplines scientifiques ont été utilisés lors des travaux de thèse, notamment en génétique où deux types de marqueurs ont été employés (microsatellite et cytochrome c oxydase subunit I).

Les figures et tableaux sont présentés en vis-à-vis du texte et leur numérotation est réinitialisée au début de chaque chapitre. Les figures et tableaux apparaissant en "Supplementary data" dans les articles, sont appelés dans le texte : "Figure X-SX" et sont présentés à la fin de chaque article. Afin de faciliter la lecture, la bibliographie est présentée à la fin de chaque article au format de la revue dans laquelle il est proposé.

References

- Amouroux, P., Normand, F., 2013. Survey of Mango Pests in Reunion Island, with a Focus on Pests Affecting Flowering. IX Int. Mango Symp. 992, 459–466.
- Amouroux, P., Normand, F., Nibouche, S., Delatte, H., 2013. Invasive mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Felt) (Diptera: Cecidomyiidae) in Reunion Island: ecological plasticity, permanent and structured populations. Biol. Invasions 15, 1677–1693. doi:10.1007/s10530-012-0400-0
- Anasiewicz, A., Winiarska, W., 1995. Insects occurring on celery grown for seeds. Folia Hort. 1.
- Baider, C., Florens, F. V., Baret, S., Beaver, K., Matatiken, D., Strasberg, D., & Kueffer, C., 2010. Status of plant conservation in oceanic islands of the Western Indian Ocean. In Proceedings of the 4th global botanic gardens congress (p. 1).
- Bale, J.S., Hayward, S.A.L., 2010. Insect overwintering in a changing climate. J. Exp. Biol. 213, 980–994. doi:10.1242/jeb.037911
- Barba, R.C., 1974. Induction of flowering of the mango by chemical spray, in: Proceedings 5th Science Meeting, Crop Sci Soc Phils. University of Nueva Caceres, Naga City, pp. 154–160.
- Bech, R., 1967. Zur Bedeutung der Lygus-Arten als Pflanzenschädlinge. Biol Zbl 86, 205–232.
- Bénard, J.F., Collin, G., Robert, R., 2008. Dossier de candidature au patrimoine mondial de l'UNESCO: Pitons, cirques et remparts de l'île de La Réunion. Parc Natl. La Réunion. 558pp.
- Bernays, E.A., Chapman, R.F., 1994. Host-Plant Selection by Phytophagous Insects. Springer.
- Bernays, E., Graham, M., 1988. On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. Ecology 69, 886–892.
- Bilewicz-Pawińska, T., 1970. Przegląd badań nad rolą zmieników (*Lygus* sp.) w agrocenozach w Polsce. Wiad Ekol 16, 293–297.
- Bompard, J.M., 1993. The genus *Mangifera* re-discovered: the potential contribution of wild species to mango cultivation. Acta Hort ISHS 341, 69–77.
- Bonneville, A., Barriot, J.P., Bayer, R., 1988. Evidence from geoid data of a hotspot origin for the southern Mascarene Plateau and Mascarene Islands (Indian Ocean). J. Geophys. Res. Solid Earth 93, 4199–4212. doi:10.1029/JB093iB05p04199

- Brent, C.S., 2012. Classification of diapause status by color phenotype in *Lygus hesperus*. J. Insect Sci. 12, 136.
- Brittain, W.H., 1919. Notes on *Lygus campestris*, L., in Nova Scotia., in: Proceedings of the Entomological Society of Nova Scotia. Presented at the Entomological Society of Nova Scotia, pp. 76–81.
- Campbell, R. J. 1992. A guide to mangos in Florida. Fairchild Tropical Garden.
- Cassis, G., Schuh, R.T., 2012. Systematics, Biodiversity, Biogeography, and Host Associations of the Miridae (Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha). Annu. Rev. Entomol. 57, 377–404. doi:10.1146/annurev-ento-121510-133533
- Cheke, A., Hume, J.P., 2008. Lost land of the Dodo: an ecological history of the Mascarene Islands. T AD Poyser Lond.
- Cole, N.C., 2009. A field guide to the reptiles and amphibians of Mauritius. Mauritian Wildlife Foundation, Vacoas, Maurice.
- Côte, F.X., Chabrier, C., Domergue, R., Fouré, E., Fournier, P., Galan, M.B., Laplace, D., Marnotte, P., Pavis, C., Simon, S., Vannière, H., 2011. Pesticides DOM :Inventaire des Dispositifs Expérimentaux, Ministère de l'Agriculture et Onema. ed. Montpellier,France.
- Coutin, R., Milaire, M.G., Monnet, Y., Robin, J., 1984. Punaises et poires pierreuses. Phytoma.
- Dambreville, A., 2012. Croissance et développement du manguier (*Mangifera indica* L.) *in natura* : approche expérimentale et modélisation de l'influence d'un facteur exogène, la température, et de facteurs endogènes architecturaux. Montpellier 2.
- Dambreville, A., Normand, F., Lauri, P.-É., 2013. Plant growth co-ordination *in natura*: a unique temperature-controlled law among vegetative and reproductive organs in mango. Funct. Plant Biol. 40, 280–291.
- Danks, H.V., 1987. Insect dormancy: an ecological perspective. Biological Survey of Canada (Terrestrial Arthropods).
- Davenport, T., 1993. Floral Manipulation in Mangos. Presented at the Conference on Mango in Hawaii, University of Hawaii, Honolulu, Hawaii, pp. 54–60.
- Davenport, T.L., 2003. Management of flowering in three tropical and subtropical fruit tree species. HortScience 38, 1331–1335.
- Davenport, T.L., 2000. Processes influencing floral initiation and bloom: the role of phytohormones in a conceptual flowering model. HortTechnology 10, 733–739.

- Davenport, T.L., Nuñez-Elisea, R., 2009. Reproductive Physiology, in: The Mango: Botany, Production and Uses. Litz R.E., Wallingford, England, pp. 97–169.
- De Candolle, A., 1884. Origin of cultivated plants. D. Appleton and Co.
- Deguine, J.P., Gloanec, C., Laurent, P., Ratnadass, A., Aubertot, J.N., 2016. Protection agroécologique des cultures, Edition Quae. ed. Deguine J.-P., Gloanec C., Laurent P., Ratnadass A., Aubertot J.-N., Versailles.
- Denlinger, D.L., 2002. Regulation of Diapause. *Annu. Rev. Entomol.* 47, 93–122. doi:10.1146/annurev.ento.47.091201.145137
- Denlinger, D.L., 1986. Dormancy in Tropical Insects. *Annu. Rev. Entomol.* 31, 239–264. doi:10.1146/annurev.en.31.010186.001323
- Duval, M.-F., Risterucci, A.-M., Calabre, C., Le Bellec, F., Bunel, J., Sitbon, C., 2006. Genetic diversity of Caribbean mangoes (*Mangifera indica* L.) using microsatellite markers, in: VIII International Mango Symposium 820. pp. 183–188.
- Emerick, C.M., Duncan, R.A., 1982. Age progressive volcanism in the Comores Archipelago, western Indian Ocean and implications for Somali plate tectonics. *Earth Planet. Sci. Lett.* 60, 415–428.
- Esquivel, J.F., Mowery, S.V., 2007. Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in Central Texas. *Environ. Entomol.* 36, 725–730. doi:10.1603/0046-225X(2007)36[725:HPOTTP]2.0.CO;2
- Etienne, J., Roura, A., 1974. Note sur l'entomofaune des manguiers à la Réunion, in: Rapport Annuel de l'IRAT. IRAT, Saint-Denis, La Réunion, pp. 89–92.
- FAOSTAT, 2009. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database [WWW Document]. URL http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E
- FAOSTAT, 2011. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database [WWW Document]. URL http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E
- FAOSTAT, 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database [WWW Document]. URL http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E
- Faure, G., 2013. Origin of Igneous Rocks. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Fieber, F.X., 1858. Kriterien zur generischen Theilung der Phytocoriden (Capsini aut.). *Wien. Entomol. Monatschrift* 2, 329–347.
- Fisher, B.L., 2005. A new species of Discothyrea Roger from Mauritius and a new species of Proceratium Roger from Madagascar (Hymenoptera: Formicidae). *Proc. Calif. Acad. Sci.* 56, 657–667.

- Florens, F.V., Baider, C., Martin, G.M., Strasberg, D., 2012. Surviving 370 years of human impact: what remains of tree diversity and structure of the lowland wet forests of oceanic island Mauritius? *Biodivers. Conserv.* 21, 2139–2167.
- Galambosi, B., Svab, J., 1981. Damage of bugs (*Orthops kalmi* L. and *Lygus rugulipennis* Popp.) and their control in fennel (*Foeniculum vulgare* L.). *Novenyvedelem Hung.*
- Gomy, Y., Paulian, R., 2000. Nouvelle liste chorologique des coléoptères de l'archipel des Mascareignes. Société réunionnaise des Amis du Muséum.
- Grace, J., Nelson, M., 1981. Insects and their pollen loads at a hybrid *Heracleum* site. *New Phytol.* 413–423.
- Griffiths, O.L., Florens, V.F., 2006. A field guide to the non-marine molluscs of the Mascarene Islands:(Mauritius, Rodrigues, and Réunion) and the northern dependencies of Mauritius. Bioculture Press.
- Hahn, D.A., Denlinger, D.L., 2011. Energetics of Insect Diapause. *Annu. Rev. Entomol.* 56, 103–121. doi:10.1146/annurev-ento-112408-085436
- Henry, T.J., Lattin, J.D., 1987. Taxonomic status, biological attributes, and recommendations for future work on the genus *Lygus* (Heteroptera: Miridae), in: Hedlund, R.C.G.H.M. (Ed.), *Economic Importance and Biological Control of Lygus and Adelphocoris in North America*. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC.
- Hosseini, R., 2014. A study on the genus *Orthops* FIEBER (Hemiptera: Miridae: Mirinae) in Iran. *Arthropods* 3.
- Insa, G., Rossolin, G., Vincenot, D., 2002. *La Mangue - Dossier Technico-Economique*, 2nd ed. Chambre d'agriculture de La Réunion, Saint-Pierre, La Réunion.
- Jackson, R.E., Allen, K.C., Snodgrass, G.L., Krutz, L.J., Gore, J., Perera, O.P., Price, L.D., Mullen, R.M., 2014. Influence of Maize and Pigweed on Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) Populations Infesting Cotton. *Southwest. Entomol.* 39, 391–400. doi:10.3958/059.039.0301
- Jacquard, C., Virgilio, M., David, P., Quilici, S., De Meyer, M., Delatte, H., 2013. Population structure of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, in Reunion Island. *Biol. Invasions* 15, 759–773. doi:10.1007/s10530-012-0324-8
- Jauze, J.M., 2009. Avant-propos. *Les Cahiers d'Outre-Mer. Revue de géographie de Bordeaux* 62, 3–6.

- Kerzhner, I.M., Josifov, M., 1999. Family Miridae, in: Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region 3, Cimicomorpha II. Aukema B.; Rieger C., Amsterdam, pp. 1–577.
- Kotaki, T., 1998. Effects of low temperature on diapause termination and body colour change in adults of a stink bug, *Plautia stali*. *Physiol. Entomol.* 23, 53–61. doi:10.1046/j.1365-3032.1998.2310053.x
- Kumar, V., Kumar, A., Nath, V., 2013. Emerging pests and diseases of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). *Pest Manag. Hortic. Ecosyst.* 17, 11–13.
- Ledoux, J.-C., 2007. Araignées de l'île de la Réunion: II. Salticidae (Araneae). *Rev. Arachnol.* 17, 9–34.
- Ledoux, J.-C., 2004. Araignées de l'île de La Réunion: I. Hahniidae, Ctenidae, Thomisidae et Clubionidae (Araneae). *Rev. Arachnol.* 14, 159–191.
- Lindström, J., Kaila, L., Niemelä, P., 1994. Polyphagy and adult body size in geometrid moths. *Oecologia* 98, 130–132.
- Linnavuori, R. E., 1975. Hemiptera of the Sudan, with remarks on some species of the adjacent countries. 4. Miridae and Isometopidae. *Annales Zoologici Fennici* 12: 1--118.
- Litz, R.E., 2009. The mango: botany, production and uses, 2nd ed. CABI Publishing.
- Martiré, D., Rochat, J., 2008. Les Papillons de la Réunion et leurs chenilles. Biotope; Publications scientifiques du Muséum.
- McDougall, I., 1971. The geochronology and evolution of the young volcanic island of Réunion, Indian Ocean. *Geochim. Cosmochim. Acta* 35, 261–288.
- McDougall, I.A.N., Chamalaun, F.H., 1969. Isotopic dating and geomagnetic polarity studies on volcanic rocks from Mauritius, Indian Ocean. *Geol. Soc. Am. Bull.* 80, 1419–1442.
- Michon, L. in press. The volcanism of the Comores archipelago integrated at a regional scale, Springer
- Montaggioni, L.F., Nougier, J., 1981. Les enclaves de roches detritiques dans les Volcans d'Anjouan (Archipel des Comores); Origine et interprétation dans le cadre de l'évolution du Canal de Mozambique. *Bull. Société Géologique Fr.* 595–601.
- Moore, J., White, W.M., Paul, D., Duncan, R.A., Abouchami, W., Galer, S.J., 2011. Evolution of shield-building and rejuvenescent volcanism of Mauritius. *J. Volcanol. Geotherm. Res.* 207, 47–66.
- Morton, J.F., 1987. Mango, in: *Fruits of Warm Climates*. JF Morton, Miami (Floride) USA, pp. 221–239.

- Motala, S. M., Krell, F. T., Mungroo, Y., & Donovan, S. E., 2007. The terrestrial arthropods of Mauritius: a neglected conservation target. *Biodiv conserv*, 16(10), 2867-2881.
- Mukerjee, S.K., 1953. Origin, distribution and phylogenetic affinity of the species of *Mangifera* L. *J. Linn. Soc. Lond. Bot.* 55, 65–83. doi:10.1111/j.1095-8339.1953.tb00004.x
- Mukherjee, S.K., 1972. Origin of mango (*Mangifera indica*). *Econ. Bot.* 26, 260–264. doi:10.1007/BF02861039
- Musolin, D.L., Numata, H., 2004. Late-season induction of diapause in *Nezara viridula* and its effect on adult coloration and post-diapause reproductive performance. *Entomol. Exp. Appl.* 111, 1–6. doi:10.1111/j.0013-8703.2004.00137.x
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.
- Normand, F., Michels, T., Lechaudel, M., Joas, J., Vincenot, D., Hoarau, I., Desmulier, X., Barc, G., 2011. Approche intégrée de la filière mangue à La Réunion. *Innov. Agron.* 17, 67–81.
- Nougier, J., Cantagrel, J.M., Karche, J.P., 1986. The Comores archipelago in the western Indian Ocean: volcanology, geochronology and geodynamic setting. *J. Afr. Earth Sci.* 1983 5, 135–144.
- Novotny, V., Basset, Y., 1999. Body size and host plant specialization: a relationship from a community of herbivorous insects on *Ficus* from Papua New Guinea. *J. Trop. Ecol.* 15, 315–328.
- Núñez-Elisea, R., 1985. Flowering and fruit set of a monoembryonic and a polyembryonic mango as influenced by potassium nitrate sprays and shoot decapitation, in: *Proceedings of The Annual Meeting of the Florida State Horticulture Society (USA)*. pp. 178–183.
- Nuzzaci, G., 1977. *Lygus* (Orthops) *kalmi* L. injurious to fennel. *Inf. Fitopatol.* 27, 3–5.
- Obarski, J., 1961. Dalsze badania nad entomofauną roślin baldaszkowatych oraz próba jej analizy na podstawie trzyletnich wyników. *Biul IOR* 13, 123–159.
- Obarski, J., 1960. Próba ustalenia składu entomofauny roślin baldaszkowatych na podstawie odłowów owadów z kolendry, kopru włoskiego i kminku. *Biul Inst Ochr Roślin* 9, 106–111.
- O'Dowd, D.J., Green, P.T., Lake, P.S., 2003. Invasional “meltdown” on an oceanic island. *Ecol. Lett.* 6, 812–817. doi:10.1046/j.1461-0248.2003.00512.x

- Page, W., D'Argent, G.A., 1997. A vegetation survey of Mauritius (Indian Ocean) to identify priority rainforest areas for conservation management. Mauritian Wildlife Foundation, Port-Louis, Maurice.
- Page, W.W., 1980. Occurrence of the grasshopper pest *Zonocerus variegatus* (L.) (Orthoptera: Pyrgomorphidae) in south-western Nigeria in relation to the wet and dry seasons. Bull. Entomol. Res. 70, 621–633. doi:10.1017/S0007485300007914
- Pan, H., Lu, Y., Wyckhuys, K.A.G., 2013. Early-Season Host Switching in *Adelphocoris* spp. (Hemiptera: Miridae) of Differing Host Breadth. PLoS ONE 8, e59000. doi:10.1371/journal.pone.0059000
- Parajulee, M.N., Shrestha, R.B., 2014. Metapopulation approach for landscape level management of western tarnished plant bug, *Lygus hesperus*, in Texas (Hemiptera, Miridae). Acta Phytophylacica Sin. 41, 761–768.
- Pieloor, M.J., Seymour, J.E., 2001. Factors affecting adult diapause initiation in the tropical butterfly *Hypolimnas bolina* L. (Lepidoptera: Nymphalidae). Aust. J. Entomol. 40, 376–379. doi:10.1046/j.1440-6055.2001.00242.x
- Protacio, C.M., 1999. A model for potassium nitrate-induced flowering in mango, in: VI International Symposium on Mango 509. pp. 545–552.
- Pullin, A., Bale, J., 1989. Influence of diapause and temperature on cryoprotectant synthesis and cold hardiness in pupae of *Pieris brassicae*. Comp. Biochem. Physiol. A Physiol. 94, 499–503. doi:10.1016/0300-9629(89)90128-X
- Quilici, S., 1996. Enquête sur les ravageurs et auxiliaires sur litchi à La Réunion. CIRAD-FLHOR, Saint-Pierre, La Réunion.
- Quilici, S., Attié, M., Chiroleu, F., Ryckewaert, P., Reynaud, B., Guillermet, C., Poussereau, J., Ribes, S., Parnaudeau, R., Couteyen, S., 2002. Eléments pour une synthèse des connaissances sur l'entomofaune endémique des Hauts de La Réunion. Mission Parc Natl. Hauts Réun. Réunion. La Réunion. 91pp.
- Roubik, D.W., Michener, C.D., 1980. The Seasonal Cycle and Nests of *Epicharis zonata*, a Bee Whose Cells are below the Wet-Season Water Table (Hymenoptera, Anthophoridae). Biotropica 12, 56–60. doi:10.2307/2387773
- Safford, R.J., 1997. A survey of the occurrence of native vegetation remnants on Mauritius in 1993. Biol. Conserv. 80, 181–188.
- Schoonhoven, L.M., Loon, J.J.A. van, Dicke, M., 2005. Insect-plant biology xvii. 421 pp.
- Schuh, R.T., 2008. On-line systematic catalog of plant bugs (Insecta: Heteroptera: Miridae). [http:// research.amnh.org/pbi/catalog/](http://research.amnh.org/pbi/catalog/).

- Snodgrass, G.L., Scott, W.P., Smith, J.W., 1984. Host Plants and Seasonal Distribution of the Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) in the Delta of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. *Environ. Entomol.* 13, 110–116. doi:10.1093/ee/13.1.110
- Spurgeon, D.W., Brent, C.S., 2010. Morphological characters of diapause in *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae). *J. Entomol. Sci.* 45, 303.
- Strasberg, D., Rouget, M., Richardson, D.M., Baret, S., Dupont, J., Cowling, R.M., 2005. An Assessment of Habitat Diversity and Transformation on La Réunion Island (Mascarene Islands, Indian Ocean) as a Basis for Identifying Broad-scale Conservation Priorities. *Biodivers. Conserv.* 14, 3015–3032. doi:10.1007/s10531-004-0258-2
- Subramanyam, H., Krishnamurthy, S., Parpia, H.A.B., 1975. Physiology and Biochemistry of Mango Fruit, in: C.O. Chichester, E.M.M. and G.F.S. (Ed.), *Advances in Food Research*. Academic Press, pp. 223–305.
- Tauber, M.J., Tauber, C.A., Masaki, S., 1986. *Seasonal Adaptations of Insects*. Oxford University Press, New York, NY.
- Taylor, T.H.C., 1947. Some East African species of *Lygus*, with notes on their host plants. *Bull. Entomol. Res.* 38, 233–258.
- Techer, M.A., Clémencet, J., Turpin, P., Volbert, N., Reynaud, B., Delatte, H., 2014. Genetic characterization of the honeybee (*Apis mellifera*) population of Rodrigues Island, based on microsatellite and mitochondrial DNA. *Apidologie*. doi:10.1007/s13592-014-0335-9
- Techer, M.A., 2015. Diversité génétique et phylogéographie de l'abeille *Apis mellifera* dans les îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien. Université de La Réunion, Saint-Denis, La Réunion.
- Van der Meulen, A., 1971. Mango growing in South Africa. Department of Agricultural Technical Services, Citrus and Subtropical Fruit Research Institute, Nelspruit, South Africa.
- Vayssières, J.F., 1997. Enquête sur les arthropodes ravageurs et auxiliaires du litchi à la Réunion (Rapport au Département des Productions Fruitières et Horticoles). CIRAD-FLHOR, Saint-Pierre, La Réunion.
- Vincenot, D., 1996. Expérimentation et développement des techniques de protection phytosanitaire raisonnée en cultures fruitières - Compte rendu 1996. Chambre d'Agriculture de La Réunion, Saint-Denis, La Réunion.

- Vincenot, D., 2003. Elaboration et développement d'un programme de lutte intégrée en vergers d'agrumes et de manguiers à l'île de La Réunion. ENS Agronomique, Montpellier.
- Vincenot, D., Normand, F., 2009. Guide de production intégrée de mangues à La Réunion, Cirad – Chambre d'Agriculture de La Réunion. ed. Vincenot D.; Normand, F., Saint-Pierre, Reunion.
- Virgilio, M., Delatte, H., Quilici, S., Backeljau, T., De Meyer, M., 2013. Cryptic diversity and gene flow among three African agricultural pests: *Ceratitis rosa*, *Ceratitis fasciventris* and *Ceratitis anonae* (Diptera, Tephritidae). *Mol. Ecol.* 22, 2526–2539. doi:10.1111/mec.12278
- Virteiu, A.M., Grozea, I., Stef, R., Carabet, A., Florian, T., Damianov, S., 2014. Insect community structures of bird's – foot trefoil (lotus corniculatus l.) Inflorescences along the seed dispersal. *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca Agric.* 71, 354–359. doi:10.15835/buasvmcn-agr:10631
- Wagner, E., Slater, J.A., 1952. Concerning some Holarctic Miridae. *Proc Entomol Soc Wash* 54, 273–281.
- Wagner E, 1974. Die Miriden HAHN, 1831. Des Mittelmeerraumes und der Markaronesischen Inseln (Hemiptera, Heteroptera). Teil 1. – Entomologische Abhandlungen, herausgegeben vom Staatl. Mus. für Naturkunde Dresden 37, Supplementary. 1-484.
- Warren, B.H., Simberloff, D., Ricklefs, R.E., Aguilée, R., Condamine, F.L., Gravel, D., Morlon, H., Mouquet, N., Rosindell, J., Casquet, J., Conti, E., Cornuault, J., Fernández-Palacios, J.M., Hengl, T., Norder, S.J., Rijdsdijk, K.F., Sanmartín, I., Strasberg, D., Triantis, K.A., Valente, L.M., Whittaker, R.J., Gillespie, R.G., Emerson, B.C., Thébaud, C., 2015. Islands as model systems in ecology and evolution: prospects fifty years after MacArthur-Wilson. *Ecol. Lett.* 18, 200–217. doi:10.1111/ele.12398
- Watson, L., Dallwitz, M.J., 1992. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval, version 1st June 2007.
- Wheeler, A.G.J., 2000. Plant Bugs (Miridae) as Plant Pests, in: *Heteroptera of Economic Importance*. CRC Press, pp. 36–83.
- Wheeler, A.G.J., 2001. *Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists*. Cornell University Press, Ithaca, NY.

- Whiley, A.W., Rasmussen, T.S., Wolstenholme, B.N., Saranah, J.B., Cull, B.W., 1991. Interpretation of growth responses of some mango cultivars grown under controlled temperatures. *Acta Hort ISHS* 291, 22–31.
- Williams, J. R., Griffiths, O. L., Weaver, E. A., 2007. *Butterflies of Mauritius*. Bioculture Press.
- Womack, C.L., Schuster, M.F., 1987. Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in the Northern Blackland Prairies of Texas. *Environ. Entomol.* 16, 1266–1272. doi:10.1093/ee/16.6.1266
- Wrzesinska, D., Wawrzyniak, M., 2005. Harmful Heteroptera of Orthops genus (Miridae, Heteroptera) occurring on Sosnowski's hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) in Poland. *J. Plant Prot. Res.* 45, 107–114.
- Zheng, L., Lv, N., 2002. On orthops fieber and some new species of Mirinae from China (Hemiptera: Miridae). *Acta Zootaxonomica Sin.* 27, 498–507.
- le de La Réunion: I. Hahniidae, Ctenidae, Thomisidae et Clubionidae (Araneae). *Rev. Arachnol.* 14, 159–191.
- Lindström, J., Kaila, L., Niemelä, P., 1994. Polyphagy and adult body size in geometrid moths. *Oecologia* 98, 130–132.
- Litz, R.E., 2009. *The mango: botany, production and uses*, 2nd ed. CABI Publishing.
- Martiré, D., Rochat, J., 2008. *Les Papillons de la Réunion et leurs chenilles*. Biotope; Publications scientifiques du Muséum.
- McDougall, I., 1971. The geochronology and evolution of the young volcanic island of Réunion, Indian Ocean. *Geochim. Cosmochim. Acta* 35, 261–288.
- McDougall, I.A.N., Chamalaun, F.H., 1969. Isotopic dating and geomagnetic polarity studies on volcanic rocks from Mauritius, Indian Ocean. *Geol. Soc. Am. Bull.* 80, 1419–1442.
- Montaggioni, L.F., Nougier, J., 1981. Les enclaves de roches detritiques dans les Volcans d'Anjouan (Archipel des Comores); Origine et interpretation dans le cadre de l'evolution du Canal de Mozambique. *Bull. Société Géologique Fr.* 595–601.
- Moore, J., White, W.M., Paul, D., Duncan, R.A., Abouchami, W., Galer, S.J., 2011. Evolution of shield-building and rejuvenescent volcanism of Mauritius. *J. Volcanol. Geotherm. Res.* 207, 47–66.
- Morton, J.F., 1987. Mango, in: *Fruits of Warm Climates*. JF Morton, Miami (Floride) USA, pp. 221–239.

- Mukerjee, S.K., 1953. Origin, distribution and phylogenetic affinity of the species of *Mangifera* L. J. Linn. Soc. Lond. Bot. 55, 65–83. doi:10.1111/j.1095-8339.1953.tb00004.x
- Mukherjee, S.K., 1972. Origin of mango (*Mangifera indica*). Econ. Bot. 26, 260–264. doi:10.1007/BF02861039
- Musolin, D.L., Numata, H., 2004. Late-season induction of diapause in *Nezara viridula* and its effect on adult coloration and post-diapause reproductive performance. Entomol. Exp. Appl. 111, 1–6. doi:10.1111/j.0013-8703.2004.00137.x
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403, 853–858.
- Normand, F., Michels, T., Lechaudel, M., Joas, J., Vincenot, D., Hoarau, I., Desmulier, X., Barc, G., 2011. Approche intégrée de la filière mangue à La Réunion. Innov. Agron. 17, 67–81.
- Nougier, J., Cantagrel, J.M., Karche, J.P., 1986. The Comores archipelago in the western Indian Ocean: volcanology, geochronology and geodynamic setting. J. Afr. Earth Sci. 1983 5, 135–144.
- Novotny, V., Basset, Y., 1999. Body size and host plant specialization: a relationship from a community of herbivorous insects on *Ficus* from Papua New Guinea. J. Trop. Ecol. 15, 315–328.
- Núñez-Elisea, R., 1985. Flowering and fruit set of a monoembryonic and a polyembryonic mango as influenced by potassium nitrate sprays and shoot decapitation, in: Proceedings of The... Annual Meeting of the Florida State Horticulture Society (USA). pp. 178–183.
- Nuzzaci, G., 1977. *Lygus* (Orthops) *kalmi* L. injurious to fennel. Inf. Fitopatol. 27, 3–5.
- Obarski, J., 1961. Dalsze badania nad entomofauną roślin baldaszkowatych oraz próba jej analizy na podstawie trzyletnich wyników. Biul IOR 13, 123–159.
- Obarski, J., 1960. Próba ustalenia składu entomofauny roślin baldaszkowatych na podstawie odłowów owadów z kolendry, kopru włoskiego i kminku. Biul Inst Ochr Roślin 9, 106–111.
- O’Dowd, D.J., Green, P.T., Lake, P.S., 2003. Invasional “meltdown” on an oceanic island. Ecol. Lett. 6, 812–817. doi:10.1046/j.1461-0248.2003.00512.x
- Page, W., D’Argent, G.A., 1997. A vegetation survey of Mauritius (Indian Ocean) to identify priority rainforest areas for conservation management. Mauritian Wildlife Foundation, Port-Louis, Maurice.

- Page, W.W., 1980. Occurrence of the grasshopper pest *Zonocerus variegatus* (L.) (Orthoptera: Pyrgomorphidae) in south-western Nigeria in relation to the wet and dry seasons. *Bull. Entomol. Res.* 70, 621–633. doi:10.1017/S0007485300007914
- Pan, H., Lu, Y., Wyckhuys, K.A.G., 2013. Early-Season Host Switching in *Adelphocoris* spp. (Hemiptera: Miridae) of Differing Host Breadth. *PLoS ONE* 8, e59000. doi:10.1371/journal.pone.0059000
- Parajulee, M.N., Shrestha, R.B., 2014. Metapopulation approach for landscape level management of western tarnished plant bug, *Lygus hesperus*, in Texas (Hemiptera, Miridae). *Acta Phytophylacica Sin.* 41, 761–768.
- Pieloor, M.J., Seymour, J.E., 2001. Factors affecting adult diapause initiation in the tropical butterfly *Hypolimnas bolina* L. (Lepidoptera: Nymphalidae). *Aust. J. Entomol.* 40, 376–379. doi:10.1046/j.1440-6055.2001.00242.x
- Protacio, C.M., 1999. A model for potassium nitrate-induced flowering in mango, in: VI International Symposium on Mango 509. pp. 545–552.
- Pullin, A., Bale, J., 1989. Influence of diapause and temperature on cryoprotectant synthesis and cold hardiness in pupae of *Pieris brassicae*. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 94, 499–503. doi:10.1016/0300-9629(89)90128-X
- Quilici, S., 1996. Enquête sur les ravageurs et auxiliaires sur litchi à La Réunion. CIRAD-FLHOR, Saint-Pierre, La Réunion.
- Quilici, S., Attié, M., Chiroleu, F., Ryckewaert, P., Reynaud, B., Guillermet, C., Poussereau, J., Ribes, S., Parnaudeau, R., Couteyen, S., 2002. Eléments pour une synthèse des connaissances sur l'entomofaune endémique des Hauts de La Réunion. Mission Parc Natl. Hauts Réun. Réunion. La Réunion. 91pp.
- Roubik, D.W., Michener, C.D., 1980. The Seasonal Cycle and Nests of *Epicharis zonata*, a Bee Whose Cells are below the Wet-Season Water Table (Hymenoptera, Anthophoridae). *Biotropica* 12, 56–60. doi:10.2307/2387773
- Safford, R.J., 1997. A survey of the occurrence of native vegetation remnants on Mauritius in 1993. *Biol. Conserv.* 80, 181–188.
- Schoonhoven, L.M., Loon, J.J.A. van, Dicke, M., 2005. *Insect-plant biology* xvii + 421 pp.
- Schuh, R.T., 2008. On-line systematic catalog of plant bugs (Insecta: Heteroptera: Miridae). [http:// research.amnh.org/pbi/catalog/](http://research.amnh.org/pbi/catalog/).
- Snodgrass, G.L., Scott, W.P., Smith, J.W., 1984. Host Plants and Seasonal Distribution of the Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) in the Delta of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. *Environ. Entomol.* 13, 110–116. doi:10.1093/ee/13.1.110

- Spurgeon, D.W., Brent, C.S., 2010. Morphological characters of diapause in *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae). *J. Entomol. Sci.* 45, 303.
- Strasberg, D., Rouget, M., Richardson, D.M., Baret, S., Dupont, J., Cowling, R.M., 2005. An Assessment of Habitat Diversity and Transformation on La Réunion Island (Mascarene Islands, Indian Ocean) as a Basis for Identifying Broad-scale Conservation Priorities. *Biodivers. Conserv.* 14, 3015–3032. doi:10.1007/s10531-004-0258-2
- Subramanyam, H., Krishnamurthy, S., Parpia, H.A.B., 1975. Physiology and Biochemistry of Mango Fruit, in: C.O. Chichester, E.M.M. and G.F.S. (Ed.), *Advances in Food Research*. Academic Press, pp. 223–305.
- Tauber, M.J., Tauber, C.A., Masaki, S., 1986. *Seasonal Adaptations of Insects*. Oxford University Press, New York, NY.
- Taylor, T.H.C., 1947. Some East African species of *Lygus*, with notes on their host plants. *Bull. Entomol. Res.* 38, 233–258.
- Techer, M.A., Clémencet, J., Turpin, P., Volbert, N., Reynaud, B., Delatte, H., 2014. Genetic characterization of the honeybee (*Apis mellifera*) population of Rodrigues Island, based on microsatellite and mitochondrial DNA. *Apidologie*. doi:10.1007/s13592-014-0335-9
- Van der Meulen, A., 1971. *Mango growing in South Africa*. Department of Agricultural Technical Services, Citrus and Subtropical Fruit Research Institute, Nelspruit, South Africa.
- Vayssieres, J.F., 1997. *Enquête sur les arthropods ravageurs et auxiliaires du litchi à la Réunion (Réport au Département des Productions Fruitières et Horticoles)*. CIRAD-FLHOR, Saint-Pierre, La Réunion.
- Vincenot, D., 2003. *Elaboration et développement d'un programme de lutte intégrée en vergers d'agrumes et de manguiers à l'île de La Réunion*. ENS Agronomique, Montpellier.
- Vincenot, D., Normand, F., 2009. *Guide de production intégrée de mangues à La Réunion*, Cirad – Chambre d'Agriculture de La Réunion. ed. Vincenot D.; Normand, F., Saint-Pierre, Reunion.
- Virgilio, M., Delatte, H., Quilici, S., Backeljau, T., De Meyer, M., 2013. Cryptic diversity and gene flow among three African agricultural pests: *Ceratitis rosa*, *Ceratitis fasciventris* and *Ceratitis anonae* (Diptera, Tephritidae). *Mol. Ecol.* 22, 2526–2539. doi:10.1111/mec.12278

- Virteiu, A.M., Grozea, I., Stef, R., Carabet, A., Florian, T., Damianov, S., 2014. Insect community structures of bird's – foot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) Inflorescences along the seed dispersal. *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca Agric.* 71, 354–359. doi:10.15835/buasvmcn-agr:10631
- Wagner, E., Slater, J.A., 1952. Concerning some Holarctic Miridae. *Proc Entomol Soc Wash* 54, 273–281.
- Warren, B.H., Simberloff, D., Ricklefs, R.E., Aguilée, R., Condamine, F.L., Gravel, D., Morlon, H., Mouquet, N., Rosindell, J., Casquet, J., Conti, E., Cornuault, J., Fernández-Palacios, J.M., Hengl, T., Norder, S.J., Rijsdijk, K.F., Sanmartín, I., Strasberg, D., Triantis, K.A., Valente, L.M., Whittaker, R.J., Gillespie, R.G., Emerson, B.C., Thébaud, C., 2015. Islands as model systems in ecology and evolution: prospects fifty years after MacArthur-Wilson. *Ecol. Lett.* 18, 200–217. doi:10.1111/ele.12398
- Watson, L., Dallwitz, M.J., 1992. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval, version 1st June 2007.
- Wheeler, A.G.J., 2001. Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Wheeler, A.G.J., 2000. Plant Bugs (Miridae) as Plant Pests, in: *Heteroptera of Economic Importance*. CRC Press, pp. 36–83.
- Whiley, A.W., Rasmussen, T.S., Wolstenholme, B.N., Saranah, J.B., Cull, B.W., 1991. Interpretation of growth responses of some mango cultivars grown under controlled temperatures. *Acta Hort ISHS* 291, 22–31.
- Womack, C.L., Schuster, M.F., 1987. Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in the Northern Blackland Prairies of Texas. *Environ. Entomol.* 16, 1266–1272. doi:10.1093/ee/16.6.1266
- Wrzesinska, D., Wawrzyniak, M., 2005. Harmful Heteroptera of Orthops genus (Miridae, Heteroptera) occurring on Sosnowski's hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) in Poland. *J. Plant Prot. Res.* 45, 107–114.
- Zheng, L., Lv, N., 2002. On orthops fieber and some new species of Mirinae from China (Hemiptera: Miridae). *Acta Zootaxonomica Sin.* 27, 498–507.

Chapitre I-Synthèse bibliographique

Les mirides et
quelques cas d'étude
en cultures fruitières
tropicales

Introduction

Orthops palus est une punaise de la famille des Miridae, s'attaquant à plusieurs cultures fruitières tropicales que sont le manguier (*Mangifera indica* L.) et le litchi (*Litchi chinensis* Sonnerat). Dans ce contexte, ce premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur les mirides des cultures fruitières tropicales. Elle est la base d'un article en cours de préparation et qui va être soumis à la revue "International Journal of Pest Management".

Les fruits constituent l'une des principales ressources alimentaires au monde et sont, en majeure partie produits, en milieu tropical (Nakasone and Paull, 1998). Néanmoins, peu de travaux ont porté sur les mirides ravageurs des cultures fruitières tropicales, qui constituent pourtant l'une des familles d'insectes les plus riches avec 11000 espèces décrites. La synthèse fait donc un état des connaissances disponibles sur ces espèces de mirides, en prenant pour cas d'étude plusieurs espèces s'attaquant à des cultures d'importance économique (cacao, noix de cajou, avocatier, etc.).

La synthèse est composée de trois parties. Une première partie présente les principales caractéristiques bioécologiques des mirides des cultures fruitières tropicales. Elles traitent aussi bien du régime alimentaire, de la gamme d'hôtes que de la dynamique spatio-temporelle et de la gestion des populations. La deuxième partie de la synthèse concerne des cas d'étude des mirides du cacaoyer, des mirides de la noix de cajou et de cinq autres exemples de cultures tropicales attaquées par une ou plusieurs espèces de mirides. Enfin, l'article se termine, dans une courte troisième partie, en abordant le cas des mirides utilisés en tant qu'agents de biocontrôle en culture de plein champ ou en culture sous serre.

Article en préparation: Mirids (Hemiptera: Miridae) of tropical fruit crops. A Review

Morguen Atiama^{1,*}, Regis Babin², Alfred Wheeler³, Jean-Philippe Deguine¹

¹ CIRAD, UMR PVBMT; 7 chemin de l'IRAT 97410 Saint-Pierre, Reunion Island, France;
email: morguen.atiama@cirad.fr;

² CIRAD, UPR Bioagresseurs analyse et maîtrise du risque; F-34398 Montpellier, France;
email: regis.babin@cirad.fr;

³ School of Agricultural, Forest, and Environmental Sciences, Clemson University, Clemson,
South Carolina 29634; email: awhlr@clemson.edu

* Corresponding author

Table I-1. Miridae, pests of tropical fruit crop

Fruit crops (Country / Area)		Economic importance
Bryocorinae		
<i>Monaliniina sp.</i>	Cashew (India); Cacao (Africa)	High
<i>Odoniellina sp.</i>	Cashew (India); Cacao (Africa)	High
<i>Distantiella theobroma</i>	Cacao (Africa)	High
<i>Helopeltis antonii</i>	Cashew (India); Guava (India); Cacao (Africa)	High
<i>Helopeltis schoutedeni</i>	Cacao (Africa); Mango (SE Africa Malawi); Cashew (Africa); Avocado (Africa); Guava (Africa)	High
<i>Helopeltis theivora</i>	Cacao (Peninsula Malaysia); Guava (West Malaysia)	High
<i>Helopeltis bradyi</i>	Cacao (Sri Lanka)	High
<i>Helopeltis pernicialis</i>	Cacao (Australia)	High
<i>Monalonion sp.</i>	Cacao (South and central America)	High
<i>Sahlbergella singularis</i>	Cacao (Africa)	High
<i>Platygomiriodes apiformis</i>	Cacao (Malaysia)	High
<i>Pseudodoniella pacifica</i>	Cacao (Papa New Guinea)	High
<i>Pseudodoniella typica</i>	Cacao (Papa New Guinea)	High
<i>Monalonion dissimulatum</i>	Cacao (Brazil)	High
<i>Engytatus modestus</i>		Low
<i>Helopeltis anacardii</i>		Low
<i>Helopeltis bradyi</i>	Tropical crops (Africa)	Low
<i>Helopeltis clavifer</i>		Low
<i>Platygomiriodes apiformis</i>	Cacao (Malaysia)	Low
Mirinae		
<i>Dagbertus fasciatus</i>	Avocado (Florida); Mango (Florida)	High
<i>Dagbertus olivaceus</i>	Avocado (Florida)	
<i>Rhinacloa clavicornis</i>	Avocado (Florida); Mango (Florida)	High
<i>Ruspotiella coffeae</i>	Coffee (Africa)	High
<i>Hyalopeplus pellucidus</i>	Guava (Hawaii)	High
<i>Lygus species</i>	Mango (Fiji)	High
<i>Closterotomus norvegicus</i>	Pistachio (California)	High
<i>Lygus hesperus</i>	Pistachio (California)	High
<i>Psallus vacciniola</i>	Pistachio (California)	High
<i>Orthops palus</i>	Mango (Reunion Island)	High
<i>Closterotomus norvegicus</i>	Several crops (North America, Great Britain)	Low
<i>Creontiades dilutus</i>	Passion fruit (Australia)	Low
<i>Hyalopeplus pellucidus</i>	Guava (Hawai)	Low
Phylinae		
<i>Campylomma austrinum</i>	Mango (Australia)	High
<i>Campylomma liebknehti</i>	Mango (Australia)	High

Introduction

Tropical fruits can have industrial and medicinal uses but most important as food crops (Nakasone and Paull, 1998). Most fruits are produced in tropical environments where they are subject to pressure from many pests, including insects, which are able to flourish under favorable conditions (e.g., high temperature, absence of winter). Among pestiferous insect groups is the family Miridae which is diverse in both species richness (>11,000 species) and bio-ecological characteristics. As major components of agroecosystems, mirids, commonly known as plant bugs, have been studied in three contexts: as worldwide pests of annual crops; as fruit crop pests in temperate and Mediterranean environments; and as a beneficial insect for vegetable crops in temperate and tropical zones.

Relatively few studies have focused on Mirids as pests of tropical fruit crops. Our review aims to summarize the available information and suggest gaps in the knowledge of mirids as pests, predators, and omnivores in relation to tropical fruits. The term "tropical" is used here in its broadest sense and corresponds geographically to the strictly tropical zone (between the two tropics) plus the supratropical zone (formerly called subtropical) (Vigneau, 2001). This area is located at a latitude above those of the tropics (Mayer, 2014). The term "tropical crop" is used as defined by Rieger (2006): "a perennial, edible crop where the economic product is the true botanical fruit or derived from therefrom". This definition excludes annual crops (e.g., tomato, pear, melon, corn) and fruits that are used for the production of fibers and oils. However, cocoa and coffee, whose fruits (in the physiological sense) are consumed after processing, are included in our review because they are tropical crops of worldwide economic importance and their mirid pests have been the subject of many studies. Tropical fruit crops are attacked by several species of Mirids (Table I-1). The relatively small number of species reflects the comparative lack of knowledge about mirids in tropical environments. Our review emphasizes the principal pest species and is organized in two parts. The first part establishes their main bio-ecological characteristics: Morphology, systematics and diversity; nutrition, insect / plant interactions and diet; reproduction and host plants; life cycle, voltinism, diapause and annual cycles; and damage and population management. The second part presents several case studies. First we treat cocoa and cashew mirids (species of *Distantiella*, *Helpeltis*, and *Sahlbergella*), which have been widely studied and globally are among the most economically important

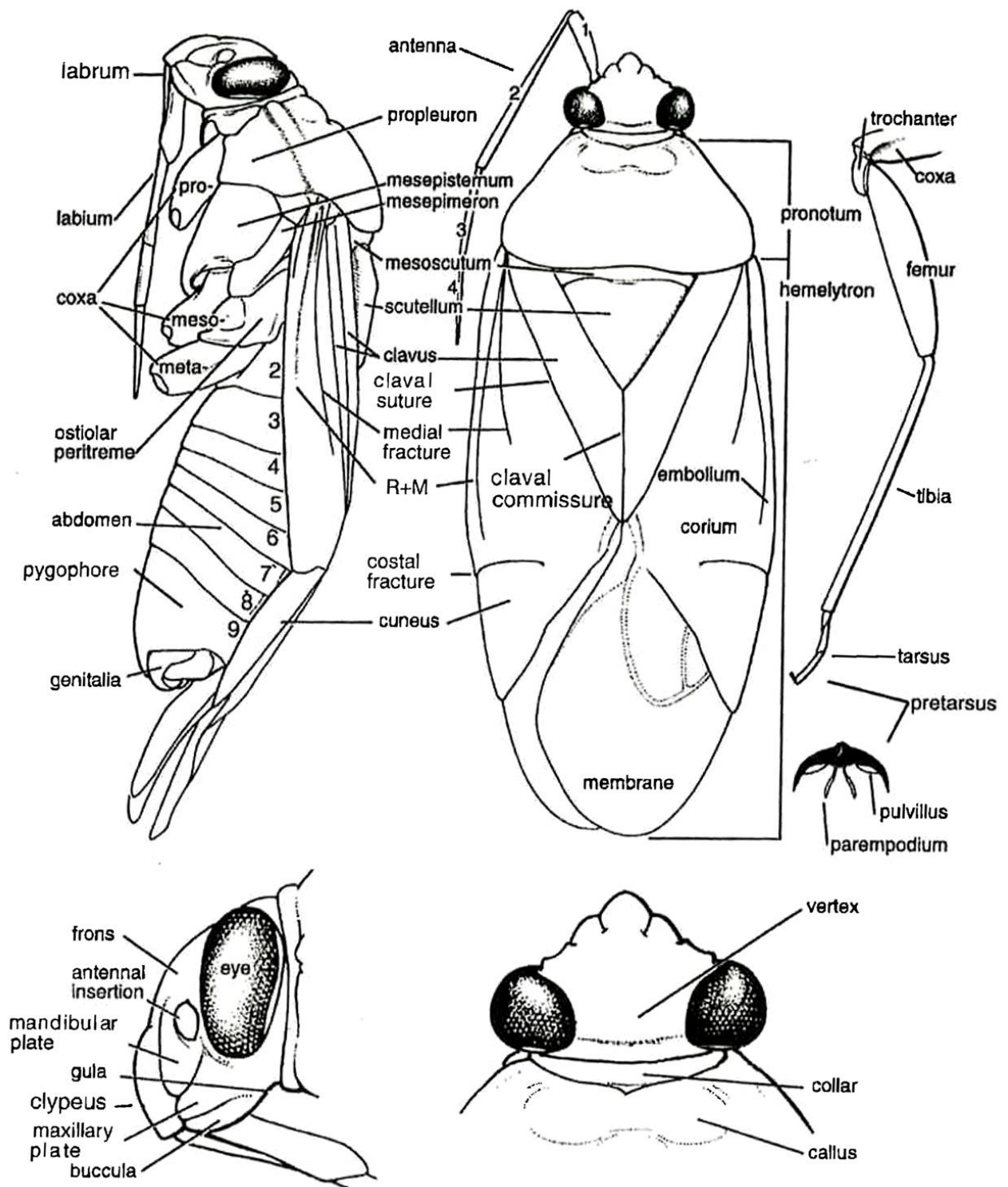


Figure I-1. General morphology of a *Lygus* sp (Miridae)
(D'après Schuh & Slater, 1995)

pests of these crops (Peña and Sharp, 2002; Schaefer and Panizzi, 2000; Wheeler, 2001). The review also deals with mirids as significant pests of "real fruit," including mango avocado, guava, and citrus. Our case studies conclude with a discussion of several species of predatory mirids that can be important natural enemies of crop pests.

Characteristics of Mirids

Morphology, systematics and diversity

Adult mirids range in length from 1.5 to 15 mm, but most species are between 3 and 6 mm. They can be elongate to ovoid with the hemelytra subparallel (Cassis and Schuh, 2012; Wheeler, 2001). Adults can be brightly colored, ranging from shiny yellow to vivid orange or red and black, whereas those of other species have colors similar to the leaves, stem, flowers and bark of their host plants—that is, gray, brown, black or yellowish green. The head is triangular, prognathous or hypognathous. The eyes are usually large and ocelli are observed only in the subfamily Isometopinae. Mirids have a four segmented antenna and labium. Although most species are fully winged (macroptery) so that the forewings cover the abdomen, some form of wing shortening is widespread (submacroptery, brachyptery, microptery, coleoptery). Sexual dimorphism and intraspecific wing polymorphism also are common (Cassis and Schuh, 2012). The forewings of plant bugs have a cuneus at the apex of the corium and usually one or two closed cells in the wing membrane (except in short-winged forms) (Figure I-1). The body surface can be dull, polished smooth or punctate (Wheeler, 2000). Many species are pubescent (Henry and Wheeler, 1988). An antlike appearance (myrmecomorphy) is common in the family (McIver and Stonedahl, 1993). Nymphs typically resemble adults, with differentiation in their body proportions (mainly head, thorax, and appendages) and pigmentation they have two-segmented tarsi and lack wings and reproductive structures (Wheeler and Henry, 2008).

Mirids represent one of the richest families of insects, with more than 11,000 described species. Eight subfamilies are recognized: Isometopinae, Cylapinae, Psallopinae, Orthotylinae, Phylinae, Bryocorinae, Deraeocorinae and Mirinae. The Mirinae, with about 4000 species, is the largest subfamily and is followed in species richness by Phylinae, Orthotylinae, Bryocorinae, Deraeocorinae, Cylapinae, Isometopinae, and Psallopinae. A

doubling in the number of described Mirid species has been predicted as tropical faunas becomes better known (Wheeler and Henry, 2008). Mirids are able to adapt to different habitats and are among the most ecologically successful insect groups. They not are rich in numbers of species but also in geographical distribution they are found in all biogeographic regions except Antarctica (Schuh, 2008, 1995; Wheeler, 2001). Mirid diversity is particularly great in tropical and Mediterranean ecosystems(Cassis et al., 2007; Schuh, 1995). Mirids can be found from below sea level to an altitude of 5400 m (Wheeler, 2001).

Early studies of mirids were done by Linnaeus in *Systema Naturae* (Linnaeus, 1758).About two thirds of the species have been described by seven specialists: Reuter, Poppius, Linnavuori, Distant, Wagner, Knight and Carvalho (Cassis and Schuh, 2012). Taxonomic and biological studies of mirids have been hindered by their small size and fragility, difficulty and complexity of field observations, and difficulty in rearing. Since the mid-20th century, numerous studies have been undertaken, taxonomic and biological (Wheeler, 2001), even though most systematic and taxonomic work has been done by relatively few researchers. Taxonomic studies that focused on limited geographical areas led to classifications that sometimes were inappropriate or redundant (Cassis and Schuh, 2012). Since the mid-20th century, the global catalogs of Carvalho and Schuh resulted in a resurgence of mirid taxonomic activity (Carvalho, 1952, 1960, 1959, 1958a, 1958b, 1957; Schuh, 2008, 1995). Over the past 15 years, the rate of mirid description has doubled compared to the last 50 years (Cassis et al., 2007; Schuh, 1995). Despite the limited number of mirid specialists, the "suprageneric" classification has undergone extensive revision, with the suprageneric phylogeny of Schuh et ses collaborateurs (2009) forming the basis for the study of relationships among mirids (Cassis and Schuh, 2012).

In addition to their species richness, mirids exhibit more diverse feeding habits than those of any other heteropteran family. This trophic plasticity (Wheeler, 2001) enables certain plant-feeding (phytophagous, herbivorous) species to complete their larval development on a purely animal diet. Conversely, some predatory (zoophagous) species, such as *Dicyphus tamaninii* Wagner, are able to reach adulthood on a plant with or without animal prey (Saleh and Sengonca, 2001). Other features that help explain the ecological success of mirids include close interactions with their host plants (for mating, oviposition, and nutrition). Mirid have close associations with seed plants, with which they have putatively evolved in concert; many examples of phylogenetic restrictedness in host usage are known (Cassis, 2008; Schuh and

Weirauch, 2010; Schwartz, 1984). Their small size, ability to detoxify secondary metabolites, poikilothermy, and possession of a sclerotized exoskeleton also are thought to have contributed to the success of mirids (Bernays, 1982; Wheeler, 2001).

Endophytic oviposition and extraoral digestion are adaptations that allow mirids to avoid many problems encountered by herbivores, such as desiccation and overcoming plant defenses (Wheeler, 2001). Determining whether a particular mirid species is mostly injurious or beneficial in a given crop is not always straightforward. Certain omnivorous species can switch from being predominately phytophagous to largely predacious. Trophic changes (Cohen 1996) can involve cannibalism (Hamdi et al., 2013) and intraguild predation (Fréchette et al., 2007; Lucas and Alomar, 2001; Trotta et al., 2015), and potentially can alter a mirid's ecological role in an agroecosystem. The insect's status in a given crop can depend on factors such as location, season, host variety and stage of development, availability of prey and alternative resources (e.g., nectar, pollen), and the use (or not) of pesticides (Wheeler, 2001).

Nutrition, insect-plant interactions and diet

Mirids are sucking insects which, like other heteropterans, feed by puncturing tissues with their stylets while injecting digestive enzymes (e.g. polygalacturonase) through the salivary duct to liquefy cell contents (Wheeler, 2001). The resulting soupy mixture or food slurry is ingested through the food canal and then passed into the alimentary canal where it is digested and absorbed (Cohen 2000). Mirid herbivores do not feed on all organs of a plant but tend to favor nitrogen-rich tissues. Many mirid thus prefer apical meristems or flowering structures, which are rich in nutrients (Wheeler, 2001). Because many mirids feed on flowers, they sometimes are referred to as "flower bugs" (Kullenberg, 1944).

Determining the diet of Heteroptera in general and of mirids in particular can be problematic. The feeding apparatus of the Heteroptera is one of the most complex and efficient in the Insecta and perhaps the entire animal kingdom. It is the least understood of the major suborders of the Insecta (Cohen, 1998a, 1995). In mirids, the dietary habits range from strict phytophagy to strict zoophagy (Wheeler, 2001) through zoophytophagy (a feeding behavior combining zoophagy with phytophagy, or phytozoophagous behavior, depending on the

relative degree of animal versus plant consumption (Alomar and Wiedenmann, 1996). Zoophytophagy is now recognized as common within the Miridae family (Alomar and Wiedenmann, 1996; Coll and Guershon, 2002; Whitman et al., 1994). Both zoophytophagous and phytozoophagous function as omnivores. In zoophytophagy, there are also (Saleh and Sengonca, 2001; Wheeler, 2001). Conversely, there are zoophagous species that are selectively herbivorous (Alomar and Wiedenmann, 1996). These mixed-feeding habits make the ecological roles of many mirid species difficult to assess (Boyd et al., 2002; Wheeler, 2001). Trends, however, can be identified at the subfamily level. Most Bryocorinae, Mirinae, Orthotylinae, and Phylinae are herbivorous, although many orthotylinae and phylinae are omnivores and Bryocorinae: Dicyphina are predators. The Isometopinae and Deraeocorinae are zoophagous (Cassis and Schuh, 2012; Wheeler, 2001; Wheeler and Krimmel, 2015).

Diet typically is similar in nymphal and adult stages of Miridae, although trophic habits can differ among in diet can developmental stages (Wheeler 2001). In the case of *Lygus lineolaris* and *L. hesperus*, prey-feeding duration decreases as the age of the bugs increase (Hagler et al., 2010), which probably is a function of predator to prey size ratio: large predators generally have shorter prey handling times than small predators (Sabelis, 1992).

The diet of a species of a mirid species is determined by direct observations of feeding behavior in the field and / or laboratory, which is often tedious and complicated to implement (Hagler et al., 1992). Moreover, in predatory bugs, identification of predator-prey relationships is time-consuming and the effects of natural enemies on prey densities are not always easily quantifiable. A plant and animal diet differing in chemical composition requires physiological and morphological adaptations, mainly in digestive enzymes (Cobben, 1978). Modern tools make it possible to assess the diet of mirids more accurately than by visual observation in the field. Two main features have been studied: the composition and activity of the digestive enzymes and morphology of the mouthparts. The composition and activity of digestive enzymes (α -amylase, trypsin-like enzyme, α -glucosidase, pectinase, elastase) of the salivary glands and the internal digestive system determines whether a mirid is able to feed on plant or animal tissues (Agusti et al., 2000; Baptist, 1941; Cohen, 1998a, 1998b, 1995, 1993, 1990; Miles, 1972, 1964). Recent enzymatic studies (Agblor et al., 1994; Boyd, 2003; Boyd et al., 2002; Celorio-Mancera et al., 2008; Colebatch et al., 2001; Cooper et al., 2013, 2013; Frati et al., 2006; Habibi et al., 2001; Knop Wright et al., 2006; Torres and Boyd, 2009; Zeng and Cohen, 2001, 2000) have shown that the type of peptidase enzymes

(those that digest proteins), does not allow differentiation between phytophagous and zoophagous species. The presence of amylase activity in a predator and peptidases in phytophagous species reflects the ability of these species to modify their diet (Torres and Boyd, 2009). The salivary and midgut digestive enzymes of the zoophytophagous *Lygus hesperus* and *L. lineolaris* are better adapted for phytophagy than zoophagy (Agusti et al., 2000). Examination of mouthpart morphology also helps in determining the diet of a particular mirid species (Boyd, 2003; Boyd et al., 2002; Brozek and Herczek, 2004). Thus, the direction and number of the barbs in the mandibular stylets can be a good indicator of diet. In Pentatomidae, the barbs of phytophagous species point away from the head, whereas the barbs of predators point toward the head (Cohen, 1996). Barbs on the mandibular stylets of reduviids and other predacious heteropterans are more numerous in predacious than in phytophagous species. Cohen (1990) described it as “The right maxillary stylet has two rows of at least seven strongly recurved teeth in front of at least three weakly recurved teeth on the inner surface, all pointing away from the head”. The study of these two parameters (enzyme activity and morphology of the mouthparts) determines the degree of adaptation of a species to a particular diet. For example, *Deraeocoris nigrifolius* (Knight, 1921) has digestive enzymes and mouthparts particularly suitable for carnivorous diet (Boyd, 2003) while *D. nebulosus* (Knight, 1921) has adaptations to be zoophagous but also has enzymes granting it a certain degree of phytophagy (Boyd et al., 2002). Possessing these specific enzymes does not however guarantee their use when faced with a choice. Dietary studies in situations where a choice is available (plant vs. animal prey) must be done (Hagler et al., 2010).

The range of host plants for phytophagous bugs or of animal prey for zoophagous bugs can be specific to one species (monophagia) to a narrow range of species (oligophagia) or a high number of species (polyphagia). Zoophagous or zoophytophagous mirids have a wide range of feeding hosts. For example, nymphs and adults of *Nesidiocoris tenuis*, a zoophytophagous generalist predator, feed on eggs and nymphs of *Tuta absoluta* (Urbaneja et al., 2009) and *Bemisia tabaci* nymphs (Calvo et al., 2009). Other species such as *Macrolophus pygmaeus* have characteristics of generalist predators (Perdikis et al., 2011; Urbaneja et al., 2012, 2009). Specialist zoophagous mirids have also been identified including *Stethoconus japonicus* Schumacher (Neal et al., 1991).

For their part, herbivorous mirids are mostly polyphagous. Indeed, like most herbivores, mirids feed on several plant species due to the spatial and temporal variability of available

resources and their specific nutritional needs (Schoonhoven et al., 2005). For example, cocoa bugs in Africa are polyphagous and attack a small number of other plant species that can serve as shelter when cocoa is not attractive enough, especially during periods of bud growth and fruit production. The range of feeding hosts can also be very wide, for example the genus *Lygus* (*Lygus lineolaris*), with nearly 400 feeding host species in more than 20 plant families (Esquivel and Mowery, 2007; Young, 1986). Making an inventory of feeding hosts in such cases is tedious and is not exhaustive as the insect has strong polyphagia.

Some recent techniques are used to inventory feeding hosts. Other disciplines are currently offering two tools for assessing the host range. Pollen analysis is a useful tool to identify origin and movement of insects. Entomopalynology, a discipline studying insects and pollen, can be used to determine many aspects of the life of an insect, its habitat, its dispersion and migration within its native habitat or in agroecosystems (Gregg et al., 1993; Hendrix et al., 1987; Jones et al., 2007; Jones and Allen, 2012; Jones and Coppedge, 2000, 1999; Jones and Greenberg, 2009; Lingren et al., 1993; Loublier et al., 1994). In mirids, the work of Jones and Allen (2013) is based on the study of pollen grains to inventory host plants and study the dispersion of *L. lineolaris*. In addition, this tool is less tedious than in situ research and opens the door to the determination of non-crop utilization in many species of mirid. On the other hand, host feeding is also available by amplifying chloroplast intron markers from the gut of a subsample of individual mirids. This technique has shown in Australia that the green mirid feeds on several other plants besides its two main host plants (Hereward and Walter, 2012) and also it moved between alfalfa and cotton (Hereward et al., 2013). These two technologies can be used to replace mark-recapture (Kumar and Musser, 2010, 2009) which is time consuming and expensive (Jones and Allen, 2013).

The change in diet within Mirid and within the suborder Heteroptera has often been discussed and debated. Assumptions have evolved in response to research findings. The work in the 1950s-60s suggested the ancestors of Mirid were herbivorous, based on the apparent ease in passing from a herbivorous diet to a carnivorous diet (China, 1953; Miller, 1971). Later, from the study of morphological characteristics of mirids (salivary glands and intestine structure), the work of Goodchild (1966, 1952) showed that Mirid have more similarities with zoophagous Heteroptera than phytophagous Heteroptera. These assumptions were congruent with the phylogenetic hypotheses advanced by Schuh (1976) causing the majority of Heteroptera (Cobben, 1978; Schuh, 1974; Schuh and Slater, 1995; Wheeler, 2001) to adopt

the hypothesis of Goodchild (1966), that the diet of ancestors of Miridae was zoophagous. However, at present, the most common diet among described species of Miridae is herbivory, and the idea of herbivory among ancestors of Miridae has spread. This phytophagous ancestor has been confirmed by the recent studies of Jung and Lee (2012a) on ancestral feeding state reconstructions based on Bayesian and parsimony inference. Results of their molecular work suggested that the Phylinae, rather than Isometopinae, were basal to all other mirid groups. However, this study was somewhat preliminary and future work using different methods and more mirid taxa may well support the isometopines as the basal mirid group. The Jung & Lee study is only one hypothesis that may, or may not, be supported by additional hypothesis testing.

Advantages and limitations of a strictly phytophagous diet (Ingegno et al., 2011; Lykouressis et al., 2008; Perdikis and Lykouressis, 2004, 2000, 1997; Portillo et al., 2012) or strictly zoophagous diet (Castañé et al., 10; Castañé and Zapata, 2005; Iriarte and Castañé, 2001) have been studied for several Miridae species. In omnivorous predators, supplementation with plant food, generally improve development rate via other biological parameters such as survival rate, longevity and/or fecundity of adults (Eubanks and Styrsky, 2005). Food intake has a strong effect on the growth rate of omnivores and their prey.

Reproduction and host plant

A host plant is necessarily a plant in which an organism is able to perform some or all of its reproductive cycle (Bernays and Chapman, 2007). This concept is, however, used inappropriately by some authors who use the term to define a plant on which an insect is found at a given moment for one or more activities (nutrition, rest, shelter, etc.) (Holopainen and Varis, 1991; Snodgrass et al., 1984a; Young, 1986). This sometimes complicates the interpretation of inventories of plants used by Miridae. Other authors ensure, however, to avoid ambiguity by using a more detailed vocabulary, using the terms "nutrition host plant" and "reproduction host plant" (Womack and Schuster, 1987). In the case of Miridae, most authors consider that a plant is a host if adults and larvae are collected simultaneously (Esquivel and Mowery, 2007; Ratnadass et al., 2012; Snodgrass et al., 1984a). In fact, the nymphs are wingless bugs and very mobile at the early stages, usually remaining on the plants on which they were born. This suggests that they undergo their development cycle on the

same plant. Most mirids, both phytophagous, zoophagous and zoophytophagous, reproduce via a plant substrate (Wheeler, 2001). Reproduction is sexual with the exception of some rare species (e.g. *Campyloneura virgula* in Sicilia (Carayon, 1989)) where parthenogenesis occurs in a context of scarce males (Wheeler, 2001). Eggs are in most cases inserted into the plant tissues at tender areas rich in nutrients such as stems and petioles (Cassis and Schuh, 2012). The egg depositing is preceded by searching for the nesting site. The female examines the substrate with the end of the labium which has sensilla (Cobben 1978), carries out “survey” bites, with the stylus and the insertion of the ovipositor in the stylet entry points to lay eggs (Ferran et al., 1996; Romani et al., 2005). Eggs are usually laid singly but may also be deposited in group of 2 to 5 eggs, and sometimes in groups of more than 20 eggs (Wheeler, 2001).

The host ranges of mirid species are poorly studied (Cassis and Schuh, 2012). Species are usually only described on plant species of economic interest on which the bugs cause damage; uncultivated species are not listed. This is confirmed by the Schuh (2008), whose database shows the host range of many species of mirid and in the present state shows that most of these species have a restricted host range. Cassis and Schuh (2012) consider that this inventory is incomplete and must be continued as the host range of mirids is potentially much larger than the one in the database. The case of *Orthops palus* is a good example: only four hosts are referenced in the database, while a study from 2013 to 2015 references nearly twenty (Atiama, personal communication).

Analysis of the database by Jung and Lee in 2012 hypothesizes that phytophagous mirids have a broader range of host plants (more than two plant orders) than predatory and omnivorous mirids. This idea is now being questioned given the fact that many may have mirids with mixed eating behaviors (herbivory and zoophagy), causing errors in classification.

Life Cycle, voltinism, diapause and dynamic in the year

The Miridae are pterygote insects (having wings) heterometabolic (undergoing a complete metamorphosis). Their life cycle consists of the egg stage, five nymphal stages and adult stage (Esperk et al., 2007; Wheeler, 2001). The larvae are wingless while adults may fly from plant

to plant. The lifespan of a mirid is usually forty days in temperate areas and thirty days in the tropics.

Miridae species can be univoltine (showing one generation per year) or multivoltine (showing several generations per year). Tree-and shrub feeding mirids of temperate regions are known to be univoltine (Wheeler, 2001). Species found on herbaceous weeds, including grasses and field crops are mostly multivoltine and overwintering in the adult stage (Wheeler and Henry, 2008). However, tropical species are often multivoltine, such as cocoa mirids, which show eight generations per year (Johnson, 1962) and *Calocoris angustatus* which shows 16 generations per year in India (Hiremath and Viraktamath, 1992).

Mirids are known to change hosts and habitats to obtain the best food sources (Esquivel and Mowery, 2007; Snodgrass et al., 1984b; Womack and Schuster, 1987) and thus they spend the year moving from wild plants to cultivated plants and crops, back to wild plants (Dong-Soon et al., 2002; Jackson et al., 2014; Kumar et al., 2013; Pan et al., 2013a; Parajulee and Shrestha, 2014; Young, 1986). These wild plants are reservoirs which maintain phytophagous mirid populations at levels sufficient to infest crops when conditions are favorable (flowering, budding), causing damage. One criterion in the choice of host is the flowering stage. Indeed, for a given plant species, adults of some mirid species (common name “flower bugs” (Kullenberg, 1944)) reach peak abundance at the flowering stage, when the plant is most attractive for adults (Pan et al., 2013b). This choice is justified by the relatively energy-rich plant tissues in flowers and buds (Wheeler, 2001).

For many temperate and colder climate insect species, diapause is essential to overwintering success and closely linked to overwintering (Bale and Hayward, 2010; Pullin and Bale, 1989). In the tropics, diapause is needed to survive severe drought in the dry season (*Zonocercus variegatus* (L.)) (Page, 1980), or needed to avoid being active during the rainy season (*Epicharis zonata*) (Roubik and Michener, 1980). Several insects are known to diapause in tropical regions (Amouroux et al., 2014; Denlinger, 1986; Dingle, 1978; Hahn and Denlinger, 2011; Pieloor and Seymour, 2001; Tauber and Tauber, 1981; Tauber et al., 1986). The regulation (induction and termination) of diapause is influenced by multiple abiotic factors. However, these factors have been studied for a wide range of species, but mainly in predictable temperate zones (Danks, 1978). Few studies on the factors responsible for diapause initiation have examined insects from tropical regions (Denlinger, 1986). The

difficulty lies in the fact that in tropical environments, there are no clear-cut changes in environmental conditions that entirely restrict continued development (Bale and Hayward, 2010) and theoretically allow development to occur all year round. Changes in temperature, moisture, population density or food composition seem to be the main stimuli of tropical diapause (Tauber et al., 1986). Termination of diapause in many tropical insects can be attributed to rainfall and high relative humidity: Lepidoptera (Jones, 1987; Kemp, 2001; Pieloor and Seymour, 2001), Hymenoptera (Seymour, 1991; Seymour and Jones, 2000), Orthoptera (Ingrisch, 1987; Tanaka, 1987) and Coleoptera (Tanaka et al., 1987). Fresh plant growth for food resources and/or oviposition sites might also be important cause in diapause termination (Canzano et al., 2003). Diapause is a common behaviour in the mirids, with numerous univoltine species, of temperate or tropical regions, that diapause in the egg or adult stages (Brent, 2012; Chippendale, 1982; Kobayashi and Numata, 1995; Kotaki, 1998; Musolin and Numata, 2004; Saulich and Musolin, 1996; Spurgeon and Brent, 2010; Wheeler, 2001). Diapause response to stimuli is known to be heterogeneous for mirid species. A recent study showed that heterogeneity entering into diapause enables populations of *L. hesperus* in Arizona to adapt to local conditions (Brent, 2015). Diapause in mirids is now detected through analysis of the hypertrophy of the fat body, and delayed maturation of the female ovaries and male accessory glands after individual dissection (Brent, 2012). Studies are attempting to identify external morphological characteristics (color, shape) to enable easier detection of mirid diapause (Brent, 2012; Harris et al., 1984; Kobayashi and Numata, 1995; Kotaki, 1998; Musolin et al., 2007; Musolin and Numata, 2004; Niva and Takeda, 2002; Spurgeon and Brent, 2010).

Damage and population management

Both adults and larvae phytophagous mirids cause damage. Visible symptoms are the result of feeding and the suction of liquefied cell contents and, to a lesser extent, of plant sap (Wheeler, 2001). Damage can also be caused by mechanical and pathogenic consequences related to spawning females (Romani et al., 2005). Several parts of the plant may be attacked, particularly young shoots, flowers, fruits and seeds. Symptoms are expressed in the form of foliar chlorosis, crinkling, and shot holing to lesions, cankers and abnormal growth patterns such as stunting, bushiness, multiple ladderling, and witches'-brooming (Wheeler, 2000). Yield losses can be significant and affect an entire harvest (Wheeler, 2001). This damage

causes economic losses that are not easily quantifiable because symptoms of mirid attacks are highly similar to those caused by other pests (insects, fungi, bacteria or viruses) and are often underestimated (Wheeler, 2000).

The members of Heteroptera, although with the same feeding behaviors that homopterans, are generally considered as low important vectors of plant pathogens (Mitchell, 2004). Miridae species are most closely associated with bacteria (Mitchell, 2004). Rare cases of transmission have been reported, as *Lygus rugulipennis* Popp. virus vector of the potato (Turka, 1978).

The use of insecticides is currently the most common way of controlling mirid pest populations (Chougule and Bonning, 2012; Z. Zhang et al., 2015) and especially fruit crops (Asogwa et al., 2009). The most commonly used insecticides are pyrethroids and organophosphates. These broad-spectrum insecticides are often inexpensive and their wide use devastates beneficial natural enemies and reduces their associated biocontrol services (Desneux et al., 2007; Lu et al., 2012). Furthermore, these insecticides usually have a high toxicity to human beings and animals, so their vast use is not suitable for the development of low-insecticide residue crops such as fruits and tea (Lu and Wu, 2011). Extensive use of insecticides has shown its limits: danger to human health, environmental destruction, higher costs, reduced efficiency and development of resistance in insects (Liu et al., 2007; Roy et al., 2010, 2009; Snodgrass, 1996; Snodgrass and Scott, 2000; P. Zhang et al., 2015).

Several alternative management practices are currently being implemented. Some studies have evaluated using sticky traps to manage mirids populations (Blackmer et al., 2008; Boivin et al., 1982) but no studies have been conducted on tropical fruit crops. However, a study conducted on apples suggests using these traps to detect the presence of bugs (*Lygus lineolaris*) at the beginning of the high-risk season and to limit the arrival of adults of other species in plots which have already been treated (Boivin et al., 1982). Tests were also conducted to assess the importance of color and attraction to sticky traps. Blue appears more attractive than yellow for *L. lineolaris* in carrot crops (Holopainen et al., 2008) while pink and white are effective in peach orchards (Los and Legrand, 2003). In general, sticky traps are a powerful tool for monitoring intervention thresholds and in plot borders to detect the presence of bugs. Pheromone traps are used worldwide against many species of Miridae (Clare et al., 2000; Fountain et al., 2014, 2010; Innocenzi et al., 2005; Jutsum et al., 1989; Jutsum and Gordon, 1989; Lowor, 2009; Mahob et al., 2011a; Shelton and Badenes-Perez, 2006; Smith

and Borden, 1990; Yasuda et al., 2010, 2009). Many species of Miridae produce sex pheromones (Innocenzi et al., 2004; Lowor, 2009; Lowor et al., 2009; Millar et al., 1997; Millar and Rice, 1998; Smith, 1977; Smith et al., 1994, 1991; Thistlewood et al., 1989; Yasuda et al., 2012, 2010; Zhang and Aldrich, 2008, 2003a, 2003b; Zhang et al., 2011).

Furthermore, the use of biocontrol agents (parasitoids, entomopathogenic fungi, ants, other bugs) represents an increasingly valuable alternative. Finally, the use of trap cropping is an agroecological approach for the management of many pests, including phytophagous Mirids (Accinelli et al., 2005). The high polyphagy of mirids and their distinct preference for certain plant species upon visual, tactile or olfactory cues (Hokkanen, 1991; Schoonhoven et al., 2005; Shelton and Badenes-Perez, 2006) are essential. The principle is that the trap crop, which is more attractive than the target crop (at its most attractive stage), attracts the pest. Pest populations must be controlled on the trap crop with auxiliary insects or (bio)insecticides (Hokkanen, 1991; Shelton and Badenes-Perez, 2006). The success of trap crops could be improved via the use of sex or aggregation pheromones. Numerous successful cases of trap cropping have been reported for management of mirid pests worldwide (Lu et al., 2009). In this field, trap plant tests have been carried out on many crops including vegetable crops (Easterbrook and Tooley, 1999; Mert et al., 2001) but cotton cultivation remains the most widely studied (Lu et al., 2009) with management of the *Lygus spp.* complex in the USA (Godfrey and Leigh, 1994; Stern et al., 1964, 1969) and *Creontiades dilutus* in Australia.

Case studies

Mirids of economic importance of the Cocoa tree (West Africa) and cashew (Asia)

Cocoa mirids

Cocoa is one of the most important global fruit crop with a production of 4365 thousand tons between 2013 and 2014 (FAO STAT <http://faostat.fao.org>, 2016). Native to the tropical rainforests of America, cocoa is cultivated in all tropical regions and the majority (70%) of its production is located in West Africa (Bisseleua et al., 2011; Wessel and Quist-Wessel, n.d.).

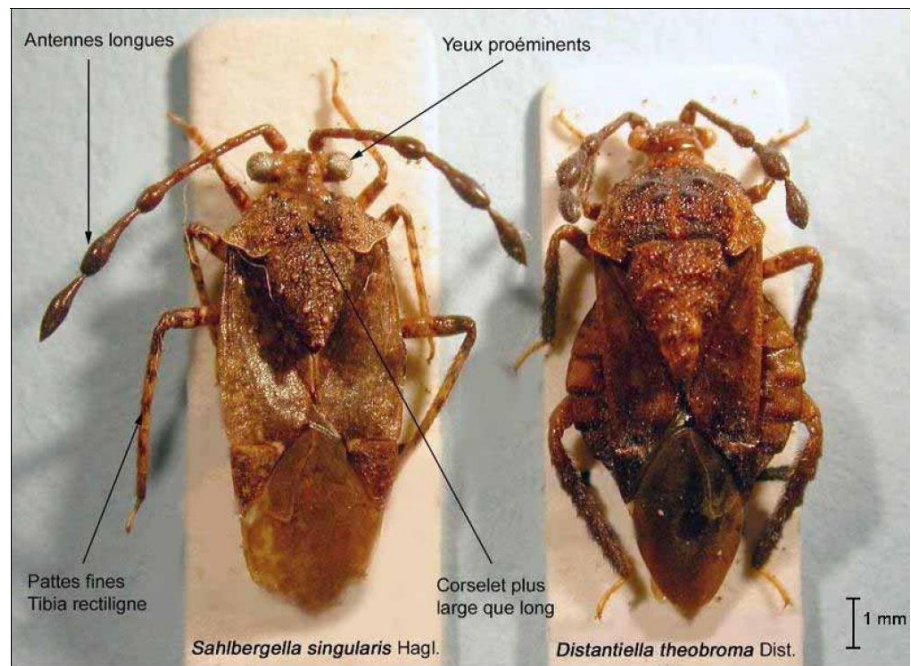


Figure I-2. *Sahlbergella singularis* (Hagl.) and *Distantiella theobroma* (Dist.)
(D'après Babin, 2009)

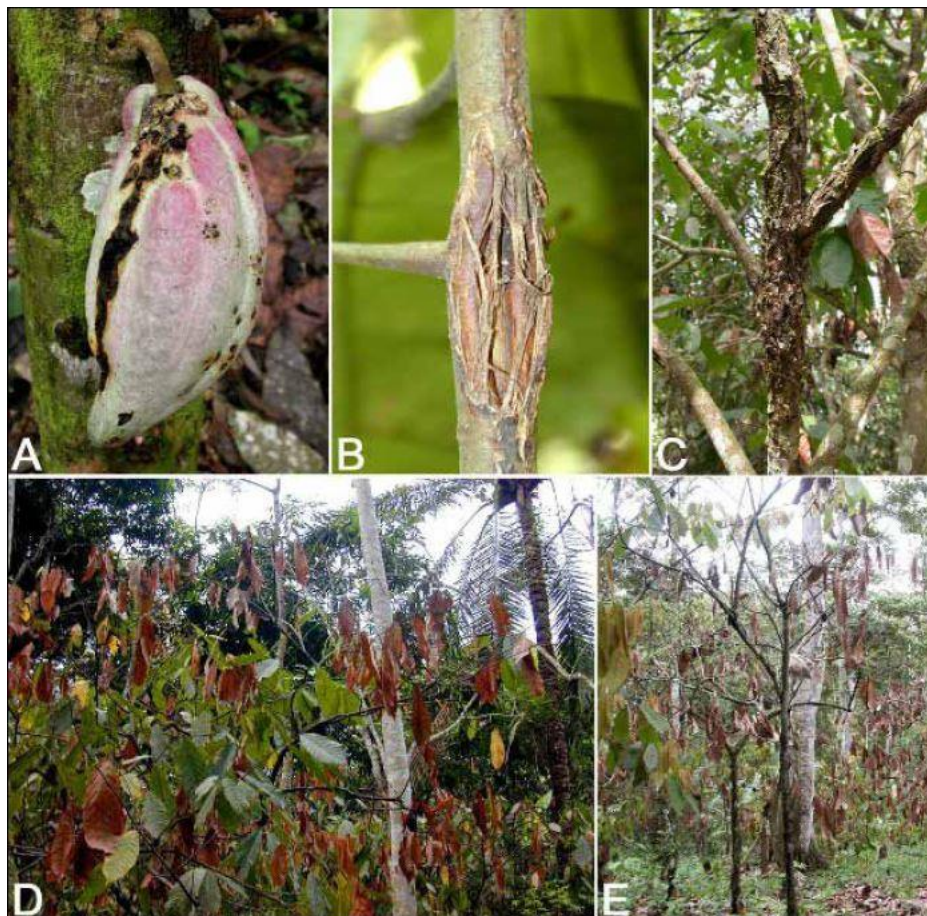


Figure I-3. Damages to cocoa caused by *Sahlbergella singularis* (Hagl.) and *Distantiella theobroma* (Dist.)
(D'après Babin, 2009)

Dozens of bug species (more than 35 species of Bryocorinae) can cause damage to cocoa (Wheeler, 2000). However, two species (*Distantiella theobroma* and *Sahbergella singularis*) (Figure I-2) cause most of the damage and are considered the most harmful species of bugs for cocoa cultivation in Africa and indeed worldwide (Lavabre, 1977). These two species, commonly called cocoa mirids or capsids, are considered the two biggest insect cocoa pests in Africa (Ayenor et al., 2004; Wessel and Quist-Wessel, n.d.) and indeed worldwide due to their broad distribution and damage caused (Lavabre, 1977). Production losses range from 25% (Ghana) (Padi and Owusu, 2015) to 30 % (Ivory Coast) (Lavabre et al., 1962).

Distantiella theobroma is particularly active between Ivory Coast to Nigeria (Wood and Lass, 2001). The damage caused is the result of bites at the superficial parenchyma of the cocoa tree twigs and pods that cause wilting (Babin, 2009) (Figure I-3). Lesions are often concentrated at the end of the pod stalk. Older pods are less affected by the bites. Injuries may develop into cankers under the combined action of parasitic fungi. Cankers are concentrated on the branches which weaken them and make them unproductive after several years. Invaded by parasitic fungi, some trees eventually die (Williams, 1953). Populations of *D. theobroma* decrease during the dry season and outbreaks begin during the rainy period extending from July to February (Kouame et al., 2015; Wheeler, 2000). Population peaks may occur between August and December (Kouame et al., 2015). Rearing techniques exist for this species (Houillier, 1964; Piart, 1970; Prins, 1965; Raw, 1959) but are complex to implement because of the difficulty of keeping *D. theobroma* adults alive (Kumar and Ansari, 1974; Lavabre, 1969; Wheeler, 2000). These complications make it difficult to undertake a complete study of the biological cycle of the insect, even if limited data already exists (Piart, 1972, 1970).

Sahbergella singularis is present between Sierra Leone to the Democratic Republic of Congo (DRC) (Babin, 2009). The main cocoa-producing countries affected by this pest are Sierra Leone, Liberia, Ivory Coast, Ghana, Togo, Nigeria and Cameroon. The species is more widely distributed than *D. theobroma* and in many countries (Cameroon, Ghana, Ivory Coast), *S. singularis* is often present in higher numbers than *D. theobroma* (Babin, 2009; Babin et al., 2010; Kouame et al., 2015; Lavabre, 1977b; Nguyen-ban, 1977). Damage caused by *S. singularis* is identical to that caused by *D. theobroma*. The density of *S. singularis* populations and its distribution in cocoa orchards has been the subject of recent work. This work highlights the importance of abiotic and biotic parameters (intrinsic to the insect) in the population dynamics of the insect (Birch, 1948; Tschardt et al., 2002). Thus, the

distribution of *S. singularis* populations, like many mirids (Lotodé, 1969; Nwana and Youdeowei, 1978; Williams, 1953; Youdeowei, 1965) is not always homogeneous but aggregative. Factors such as relative light intensity (shading) play an important role with larger aggregations of bugs in shaded areas (Babin et al., 2010). Fluctuations of *S. singularis* population are generally similar to *D. Theobroma* (outbreaks during rainy periods, peak population between August and December, depending on the localities) (Anikwe et al., 2010; Lavabre et al., 1962; N'Guessan and Coulibaly, 2000). The highest populations levels occur during the cocoa fruiting period (presence of pods) (Anikwe et al., 2010; Bruneau de Miré, 1977; Entwistle, 1972). These seasonal variations of *S. singularis* are mainly related to changes in female fertility, themselves linked to variations in resource availability (young pods), "Daily minimum relative humidity" and average daily temperature (Anikwe et al., 2010; Babin et al., 2011). The first *S. singularis* rearing programs (Raw, 1959; Youdeowei, 1964) were unproductive and costly in terms of time and plant resources (setts, twigs and pods of the cacao tree were necessary). Babin et al. (2008) put forward a new, optimized and more productive *S. singularis* rearing technique. This improvement has aided the study of *S. singularis*' biological cycle (Babin et al., 2008; Entwistle, 1972; Emile Maurice Lavabre, 1977; Nwana and Youdeowei, 1977; Raw, 1959; Youdeowei, 1973). The nymphal development time is of the order of twenty days, for a total lifetime (duration of the egg to the adult female ready to lay eggs) of over 46 days (Babin, 2009).

The management of these two mirid species is often done jointly because they are often found together in cocoa orchards. *D. Theobroma* and *S. singularis* population control is still most often performed using synthetic insecticides (Babin, 2009; Kouame et al., 2015). In the 1960s, HCH-type molecules (hexachlorocyclohexan) gave good results but the emergence of resistance resulted in usage of other classes of insecticides (pyrethroids) (Dunn, 1963a, 1963b). More recently, resistance to chlorinated hydrocarbon insecticides has been observed (Wheeler and Henry, 2008). Much work is currently being conducted to test the effectiveness of new synthetic insecticides (Anikwe et al., 2009a).

Adu-Acheampong and collaborators (2014) revised the terms of use of insecticides (doses, frequency of application, type of pesticides used) while Asogwa et ses collaborateurs (2009) revealed multiple limitations of synthetic insecticides (see I.14). It is therefore appropriate to consider new methods of population management. Nevertheless, proposed methods remain poorly implemented due to their complexity or effectiveness which as yet remains unproven.

Biological insecticides using plant extracts are recommended in Ghana in as a spray (Wessel and Quist-Wessel, n.d.). In the same country, the use of an aqueous extract of neem seeds (*Azadirachta indica* A. Juss.) gave good results but farmers are struggling to adopt this technique, due to difficulty in producing the extract (Dormon et al., 2007). The same is true for certain techniques (shade management, management of alternative hosts in orchards) (Babin et al., 2010; Mpé et al., 2002; Padi et al., 2002). Studies on the use of resistant varieties of cocoa or the use of biocontrol agents (pathogenic insect fungi such as *Beauveria bassiana* (Bal.) Vuillemin) have not yet been sufficiently studied to implement widespread use (Mahob et al., 2011a). Various studies have characterized the resistance and sensitivity of different varieties of cocoa to mirids (Anikwe et al., 2009b; Brun et al., 1997; Lachenaud et al., 2007; Sounigo et al., 2003) or their ability to attract mirids (Dibog et al., 2008). Studies of "functional genomics" associated with genetics (molecular markers, maps and QTLs) are underway to assess cocoa genes resistant to mirids (Micheli et al., 2010). Moreover, in the field of bio control, work has long been underway about the possibility of promoting the action of certain species of ants (Leston, 1970; Way and Khoo, 1991). *Oecophylla longinoda* will soon be used in Ghana against *Distantiella theobroma* and *Sahbergella singularis* (Ayenor et al., 2004). Mass trapping using pheromone traps, already used for many insects (Jutsum et al., 1989; Ryan, 2002), is envisaged for managing populations of cocoa mirids (Sarfo, 2013). A sex pheromone attracting males, isolated from virgin adult females, is known about in both species (King, 1973; Sarfo, 2013). In Ghana, rectangular traps using pheromones of each species have proved effective in attracting and trapping *S. singularis* adult males (Mahob et al., 2011b). There, organic cacao orchards are moving towards joint use of three innovative tools (pheromone traps, crude aqueous neem, *Oecophylla longinoda*) for managing mirid populations (Ayenor et al., 2004).

D. theobroma and *S. singularis* are polyphagous mirids which attack other plants in addition to cocoa. *S. singularis* hosts include *Cola spp.*, *Ceiba pentandra* and *Beria spp.* (Entwistle, 1972). *D. theobroma* is also present on species of the genus *Cola* (*Cola togoensis* (Pujol, 1957)), and on *Adansonia digitata* (Sidibe et al., 2002), *Ceiba pentandra* and *Citrus sp.*. Studies on the management of bug habitats could build on this knowledge.



Figure I-4. Damages to cashew young flush caused by *Helopeltis antonii* Signoret
(D'après Naip)

Cashew mirids in Asia

The annual world production of cashew has since 2011 been over 4 million tonnes (Sahu et al., 2015). Three species of the genus *Helopeltis* (*Helopeltis bradyi* Waterhouse ; *H. theivora* Waterhouse ; *Helopeltis antonii* Signoret) inflict significant damage to cashew in Asia (between 30-50% of losses (Abraham and Nair, 1981)), especially in India (Pillai et al., 1976), where losses can reach 100% of the crop (Sundararaju and Sundara Babu, 1999). These species of *Helopeltis* also cause damage on cashew in Australia and Africa (Peng et al., 1997). These three species of mirid (as well as a fourth species, *Pachypeltis maesarum* Kirkaldy) are named after their shape “Tea mosquito bugs”. Of these species, *Helopeltis antonii*, the most common species in India (Srikumar et al., 2015), is common in orchards (over 80% of *Helopeltis* spp. (Devasahayam and Nair, 1986). *H. antonii* is polyphagous and is also a major pest in other crops, including cocoa (Betrem, 1950; Miller, 1941; Wheeler, 2001), guava (*Psidium guajava*) (Pasupathy, 2000; Ragumoorthi and Arumugam, 1996; Stonedahl, 1991; Wheeler, 2001), annonas (*Anona* spp.) (Reddy, 2009) or tea (*Camellia sinensis* L.) (Basnet and Mukhopadhyay, 2014; Gurusubramanian and Bora, 2007; Hazarika et al., 2009; Roy et al., 2009; Sarma et al., 2014). Other tropical crops are affected by species of *Helopeltis*: mango in the Philippines, Malawi and northern Australia (Peña and Sharp, 2002) ; avocado in Africa; guava in Africa and in Malaysia; cocoa in Africa, Malaysia, Sri Lanka and Australia.

Most of the following information concerns *H. antonii* on cashew in India, as the species was widely studied in this country, a leading global cashew producer (25% of total world production (Sahu et al., 2015)). *Helopeltis antonii* causes extensive damage, even at low population densities (Vanitha et al., 2014). The nymph and adult suck the sap from the tender shoots, young leaves, inflorescence, developing apple and nuts. The new flushes dry up and induce a shriveling trees and abortion of immature nuts (Singh and Pillai, 1979) (Figure I-4). The data on the dynamics of *H. antonii* populations vary depending on the author and the study areas. Nevertheless, it is recognized that populations fluctuate cyclically and predictably (Siswanto et al., 2008). In India, *H. antonii* is primarily active between October and May, with outbreaks in January when the host flowers (Pillai and Abraham, 1975). Another two-year study in Java showed population peaks in July (Siswanto et al., 2008) while another carried out in Kerala on young cashew shows two population peaks in December and in June corresponding to flush peaks of the various cultivars present (Bhaskar et al., 2015). These studies suggest that populations are not directly affected by the rains but are significantly and positively correlated with abundance of food resources (shoots and inflorescences) (Siswanto

et al., 2008). Other studies have shown the importance of certain abiotic factors like rain (a positive correlation with population) (Bhaskar et al., 2015) and humidity (Karmawati et al., 1999) as well as biotic factors such as the size of predator populations (Karmawati et al., 1999). The biological cycle of *H. antonii* on cashew has been the subject of several studies (Ambika and Abraham, 1979; Jeevaratnam and Rajapakse, 1981; Pillai and Abraham, 1975; Sathiamma, 1984, 1977; Siswanto et al., 2008; Sundararaju and Babu, 1998). Generally, the life-cycle from egg to adult emergence is 22.2 days at $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Ambika and Abraham, 1979).

Mahapatro (2008) describes how protection of cashew crops in India has evolved and notes the need to move towards more environmentally friendly strategies by making the use of synthetic insecticides a last resort. For nearly fifty years, *H. Antonius* management in India has mainly consisted of the use of synthetic insecticides and many studies have examined the effectiveness of insecticides in different periods of fructification (Jalgaonkar et al., 2015, 2009; Justin et al., 2007; Kalyani et al., 2010; Patil and Krishna Naik, 2010; Smitha and Pushpalatha, 2014). New methods of managing mirid populations (entomopathogen, predatory ant, egg parasitoid species, botanical seed extract) are gradually being put forward (Naik et al., 2015; Naik and Chakravarthy, 2013). Thus, as *H. Antonius* is also the main pest of guava in central India (Haseeb, 2007; Patil and Krishna Naik, 2010), certain control methods implemented there (especially entomopathogenic fungi) could be adapted to cashew. Moreover, insecticides extracted from plant seeds (*Cerbera* sp.; *Azadirachta indica*) are giving encouraging results (Herianto et al., 2015; Jayanthi and Verghese, 2007). In addition, some biocontrol agents have been studied, including species of *Hymenoptera* of the genus *Telenomus*, which perform particularly well (Rajmohana et al., 2013) with parasitism rates reaching almost 17% in some regions of India (Naik et al., 2015). Species of ants (Ambethgar, 2015; Sreekumar et al., 2011; Wijetunge and Ranaweera, 2015), bugs (*Cydnocoris gilvus* Brum. (Heteroptera: Reduviidae: Harpactorinae) (Srikumar et al., 2014)) or fungi (Visalakshy and Mani, 2011) are also being studied as future biocontrols. However, the search for resistant varieties of cashew has so far revealed no accessions with resistance to *H. antonii* infestation (Vidya et al., 2015). Finally, management of wild plants found in orchards is recommended (herbaceous species such as *T. paniculata* Roth, *Leea* sp.) (Vanitha et al., 2014)) as well as near orchards (e.g.: Singapore cherry *Muntingia calabura*), because they are *H. antonii* relay plants (or other mirids *Helopeltis* spp. and *Pachypeltis maesarum* Kirkaldy) before the flush of new shoots and cashew nut inflorescences (Sundararaju et al., 2002).

Mirid pests of “real” tropical fruit

In this section, we present five species (or community of species) of Miridae preying on major tropical fruit crops such as mango, citrus, guava and avocado.

***Campylomma austrina* - Mango - Australia**

The dimpling bug, *Campylomma austrina* Malipatil (Hemiptera: Miridae) (Malipatil, 1992) distributed in the Northern Territory and Queensland, is a severe mango pest. This mirid used to be regarded as a minor pest but significant losses in 2002 led to its status being reassessed. Damage occurs during the period of late flowering and early fruit setting (late July to mid August), and is caused by the bites of adults which suck sap from flower ovaries, leaving black pimples on the skin of the fruit at each puncture site. In general, fruit with more than 10 pimples drop from the trees. The use of *Oecophylla smaragdina* Fabricius (weaver ant) as a biological control agent appears effective although significant numbers of ant are necessary (Peng and Christian, 2008). *C. austrina* may be found on other hosts such as the cashew (*Anacardium occidentale* L.) (Malipatil, 1992) and eggplant (Young and Zhang, 2001).

***Eurystylus capensis* – Citrus – South Africa**

Species of the genus *Eurystylus* are known to be serious pests of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in West and Central Africa and secondary ricin pests in South Africa (Stonedahl, 1995). Recent work by Ratnadass and Moore (2014) show for the first time a species of this genus, *Eurystylus capensis* (Distant, 1904) attacks citrus in South Africa (all commercial types excluding lemons) and is able to reproduce on it. Damage is caused by adults and mature nymphs which feed on closed citrus blossoms causing their premature death. Losses have not yet been quantified (Ratnadass and Moore, 2014).

***Hyalopeplus pellucidus* - Guava - Hawaii**

Hyalopeplus pellucidus (Stal, 1859), also known as the Transparentwinged Plant Bug, is a major pest of guava in Hawaii and is a special case because it is endemic (Asquith, 1997). Described for the first time in 1902, it is present on the main islands of the archipelago, from the coast to higher altitudes. This bug primarily attacks the corolla region of the flower bud (Mau and Martin, 2007). Damage is visible as dark necrosis on developing anthers in the bud.

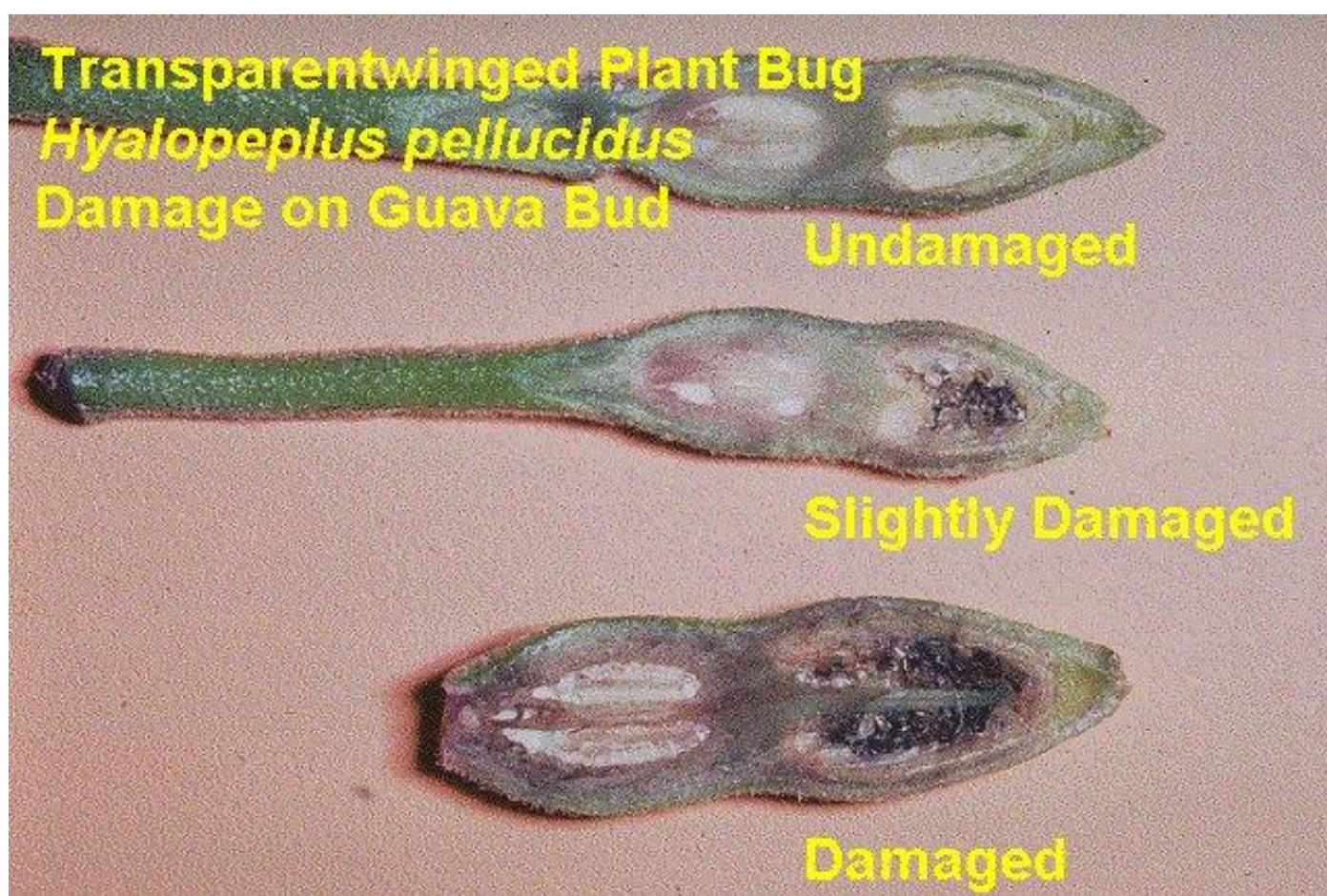


Figure I-5. Damages to guava flower buds caused by *Hyalopeplus pellucidus* Stal
(Photographie: Mau et Martin - Departement Entomology Hawaii)

This damage of the auxin producing tissue, in turn, induces abscission. Nymphal stages (second, third, and fourth instars) provoke flower bud abscission (Mau and Nishijima, 1989) often more serious than adult damage (Wheeler, 2001) (Figure I-5). Four days of feeding by nymphs is sufficient to induce bud abscission whereas oviposition into the ovary area of the flower produces a less marked effect. Population levels are abundant when buds of guava are numerous. The life cycle is partly understood and the period between hatching and the emergence of the adult takes 20 to 22 days. Management of this pest is by biological and chemical control (Mau and Martin, 2007). The wasp *Polynema scrutator* parasitizes the eggs of Transparentwinged plant bugs with an egg parasitism on average of 15% for egg laying in buds and 22% for egg in fruiting branches. However, this parasitism is not enough to prevent major damage to guava orchards. Chemical control was advised with controlled monitoring of flower buds (Mau and Martin, 2007). Egg and nymph numbers and bud damage was observed. Currently, one or two applications of malathion applied to the buds at the 3rd developmental stage is required (Mau and Martin, 2007). This polyphagous insect has been observed on many hosts (cultivated or ornamental plants) such as *Acacia koa*, avocado, coffee, *Coprosoma*, *Dodonaea*, guava, *Hibiscus*, rose flowered jatropha, *Metrosideros*, *Pipturus*, *Psidium cattleianum*, *Sida*, *Straussia*, and *Trema orientalis* (Mau and Martin, 2007).

Dagbertus fasciatus, D. olivaceus and Rhinacloa sp. - Avocado - Florida

In Florida, three mirids (*Dagbertus fasciatus* (Reuter, 1876), *D. olivaceus* (Reuter, 1907) and *Rhinacloa sp.* (Reuter, 1876)) attacked avocado crop. They feed and insert their eggs on opening buds, leaves, flowers and small fruit. Flowers and recently set fruit are most affected by attacks and damage is caused in the first few weeks after fruit set. The lesions look like 'pimply' elevations on the fruit surface and are only visible about a month after feeding (Du Toit et al., 1993). Mirid populations appear each year from January to April during the bloom of avocado (flowers fully open). Currently, management of these mirids is by spray application if large numbers of the avocado bug are observed (more than 30 mirids per panicle) shortly after fruit set (Van Den Berg et al., 1999). However, no relationship between the average number of mirids and percentage of fruit pimpling has been observed (Peña, 2003). *Dagbertus* adults are present on mango, longan, lychee, black olive, *Schinus terebinthifolius*, *Parthenium sp.* and sabal palmetto (Baranowski and Glenn, unpublished).

Orthops palus - Mango - Reunion Island

Orthops palus is considered as the leading mango pest in Reunion Island and causes serious damage sometimes leading to total loss of crops (Amouroux and Normand, 2013; Insa et al., 2002; Vincenot and Normand, 2009). The damage is the result of the bites of adults and nymphs on mango inflorescences, which then dry up. The species was described for the first time in Uganda in 1947 (Taylor, 1947) then in Reunion in 1974 (Etienne and Roura, 1974). *O. palus* shows a preference for flowering organs (Taylor, 1947). Ongoing studies show that *O. palus* is extremely polyphagous and the species can spend the year moving between different blooming plants. This "host-shift" is a phenomenon observed in other species of mirid in related genera (of the *Lygus* complex) and known as "flower mirids" as in *Apolygus locurum* (Pan et al., 2013b). These economically important plants (lychee, jujube, avocado) are widely distributed around the island.

In conclusion, two characteristics emerge from all the cases of phytophagous mirid: polyphagia, and ability to move between plants. These movements are particularly manifest in mirid species with a marked preference for flowers. These species, which justify their name of "flower bugs" (Kullenberg, 1944), have a wide host range, both in terms of number of species and number of plant families.

Predatory Miridae

The Miridae family has a large number of zoophagous and zoophytophagous species. Swedish, British and Polish mirid studies show that a significant proportion of species (25%) are zoophytophagous or optional predators (Kullenberg, 1944). It is estimated today that at least one third of known Miridae species are zoophagous (Wheeler, 2000). Little is known on most zoophagous species as predation *in situ* is difficult to observe (Wheeler, personal communication). This knowledge gap is particularly true for zoophagous mirids of tropical fruit. However, the current enthusiasm for biocontrol using predatory bugs is helping improve bio-ecological knowledge of these species in both natural and artificial environments.

Predatory mirids can attack a wide variety of arthropods, and all development stages of these arthropods. Mirid predation has been observed on Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera, Heteroptera, Collembola, Psocoptera and Cercopidae (Wheeler, 2001). Few

mirids are specific predators of other insect eggs. Those predators (in addition to early instars) mostly belong to the genera *Cyrtorhinus* (Orthotylinae) and *Tytthus* (Phyllinae). The main targets of these mirids species are Delphacidae and leafhoppers. Thus, three species of planthoppers are prime examples of biological control using mirids (Miridae/Delphacidae): *Tytthus mundulus* / *Perkinsiella saccharida* in sugar cane crops; *Tytthus mundulus*/ *Peregrinus maidis* in corn; *Cyrtorhinus fulvus*/ *Tarophagus colocasiae*) in taro crops. A number of predatory mirid species are optional or general predators of eggs and mostly belong to genera *Ceratocapsus*, *Deraeocoris*, *Phytocoris*, *Rhinacloa*, *Spanagonicus* and *Lygus*. Several species of Miridae are optional predators of insect nymphs and pupae, these being mostly herbivorous species of the orders Coleoptera, Lepidoptera, Diptera and Hymenoptera. Mites, particularly Tetranychidae, are eaten by many mirids.

In greenhouse crops, several species of Miridae are good biocontrol agents (Boyd and Alverson, 2003). In temperate and tropical environments in tomato or melon crops, four species of Miridae are widely used against the whitefly *Bemisia tabaci* or against thrips *Nesidiocoris tenuis*, *Dicyphus hesperus* (Ma et al., 2009; Sanchez et al., 2004; Sanchez and McGregor, 2009; Shipp and Wang, 2006; Vankosky and VanLaerhoven, 2015), *D. tamaninii* (Castañé et al., 2004; Lucas and Alomar, 2002; Sengonca and Saleh, 2002) and *Macrolophus caliginosus* (Alomar et al., 2006; Castañé et al., 2007, 2004). As zoophytophagous species, these four mirids may also be a threat for protected vegetable crops. Indeed, studies conducted in British Columbia (BC) show that these species can inflict damage on tomato crops, especially when population levels of their animal prey become too low (McGregor et al., 2000). Furthermore, *Deraeocoris brevis* has been effectively used, in pear orchards in temperate environments, against the pear psylla *Psylla pyricola* Foerster (Horton and Lewis, 2000).

In conclusion, given the estimates of mirid species yet to be discovered, tropical environments should be a priority area in future studies, (Wheeler and Henry, 2008) be it discovery of new phytophagous species or new zoophagous species, potential biocontrol agents.

References

- Abraham, C.C., Nair, G.M., 1981. Effective management of the tea mosquito bugs for breaking the yield barriers in cashew. *Cashew Causerie* 3, 6–7.
- Accinelli, G., Lanzoni, A., Ramilli, F., Dradi, D., Burgio, G., 2005. Trap crop: an agroecological approach to the management of *Lygus rugulipennis* on lettuce. *Bull. Insectology* 58, 9–14.
- Agblor, A., Henderson, H.M., Madrid, F.J., 1994. Characterisation of alpha-amylase and polygalacturonase from *Lygus* spp. (Heteroptera: Miridae). *Food Res. Int.* 27, 321–326. doi:10.1016/0963-9969(94)90187-2
- Agusti, N., Cohen, A.C., others, 2000. *Lygus hesperus* and *L. lineolaris* (Hemiptera: Miridae), phytophages, zoophages, or omnivores: evidence of feeding adaptations suggested by the salivary and midgut digestive enzymes. *J. Entomol. Sci.* 35, 176–186.
- Alomar, O., Riudavets, J., Castañe, C., 2006. *Macrolophus caliginosus* in the biological control of *Bemisia tabaci* on greenhouse melons. *Biol. Control* 36, 154–162. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.08.010
- Alomar, O., Wiedenmann, R.N., 1996. Zoophytophagous Heteroptera: implications for life history and integrated pest management.
- Ambethgar, V., 2015. Recognition of red weaver ants in integrated control of tea mosquito bug in cashew plantations in India. *Acta Hort.* 393–400. doi:10.17660/ActaHortic.2015.1080.52
- Ambika, B., Abraham, C.C., 1979. Bio-ecology of *Helopeltis antonii* Sign. (Miridae: Hemiptera) infesting cashew trees. *Entomon* 4, 335–342.
- Amouroux, P., Normand, F., 2013. Survey of Mango Pests in Reunion Island, with a Focus on Pests Affecting Flowering. *IX Int. Mango Symp.* 992, 459–466.
- Amouroux, P., Normand, F., Delatte, H., Roques, A., Nibouche, S., 2014. Diapause incidence and duration in the pest mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Felt), on Reunion Island. *Bull. Entomol. Res.* 104, 661–670. doi:10.1017/S0007485314000480
- Anikwe, J.C., Asogwa, E.U., Ndubuaku, T.C.N., Okelana, F.A., 2009a. Evaluation of the toxicity of Actara 25 WG for the control of the cocoa mirid *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera: Miridae) in Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.* 8. doi:10.4314/ajb.v8i8.60329

- Anikwe, J.C., Okelana, F.A., Omoloye, A.A., 2010. The population dynamics of the brown cocoa mirid, *Sahlbergella singularis* haglund in Ibadan, Nigeria. Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev. 10. doi:10.4314/ajfand.v10i7.59022
- Anikwe, J.C., Omoloye, A.A., Aikpokpodion, P.O., Okelana, F.A., Eskes, A.B., 2009b. Evaluation of resistance in selected cocoa genotypes to the brown cocoa mirid, *Sahlbergella singularis* Haglund in Nigeria. Crop Prot. 28, 350–355. doi:10.1016/j.cropro.2008.11.014
- Asogwa, E.U., Dongo, L.N., others, 2009. Problems associated with pesticide usage and application in Nigerian cocoa production: A review. Afr. J. Agric. Res. 4, 675–683.
- Asquith, A., 1997. Hawaiian Miridae (Hemiptera: Heteroptera): The Evolution of Bugs and Thought.
- Ayenor, G.K., Röling, N.G., Padi, B., Van Huis, A., Obeng-Ofori, D., Atengdem, P.B., 2004. Converging farmers' and scientists' perspectives on researchable constraints on organic cocoa production in Ghana: results of a diagnostic study. NJAS - Wagening. J. Life Sci. 52, 261–284. doi:10.1016/S1573-5214(04)80017-4
- Babin, R., 2009. Contribution à l'amélioration de la lutte contre le miride du cacaoyer *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera : Miridae). Influence des facteurs agro-écologiques sur la dynamique des populations du ravageur. Université Paul Valéry - Montpellier III.
- Babin, R., Anikwe, J.C., Dibog, L., Lumaret, J.-P., 2011. Effects of cocoa tree phenology and canopy microclimate on the performance of the mirid bug *Sahlbergella singularis*. Entomol. Exp. Appl. 141, 25–34. doi:10.1111/j.1570-7458.2011.01164.x
- Babin, R., Bisseleua, D.H.B., Dibog, L., Lumaret, J.P., 2008. Rearing method and life-table data for the cocoa mirid bug *Sahlbergella singularis* Haglund (Hemiptera: Miridae). J. Appl. Entomol. 132, 366–374. doi:10.1111/j.1439-0418.2008.01273.x
- Babin, R., Ten Hoopen, G.M., Cilas, C., Enjalric, F., Gendre, P., Lumaret, J.-P., 2010. Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests. Agric. For. Entomol. 12, 69–79. doi:10.1111/j.1461-9563.2009.00453.x
- Bale, J.S., Hayward, S.A.L., 2010. Insect overwintering in a changing climate. J. Exp. Biol. 213, 980–994. doi:10.1242/jeb.037911
- Baptist, B.A., 1941. The morphology and physiology of the salivary glands of Hemiptera-Heteroptera. Q. J. Microsc. Sci. 2, 91–139.

- Basnet, K., Mukhopadhyay, A., 2014. Biocontrol potential of the lynx spider *Oxyopes javanus* (Araneae: Oxyopidae) against the tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* (Heteroptera: Miridae). Int. J. Trop. Insect Sci. 34, 232–238. doi:10.1017/S1742758414000538
- Bernays, E.A., 1982. The insect on the plant-a closer look., in: Proceedings of the 5th. International Symposium on Insect-Plant Relationships. Wageningen (Netherlands). 1-4 Mar 1982.
- Bernays, E.A., Chapman, R.F., 2007. Host-Plant Selection by Phytophagous Insects. Springer Science & Business Media.
- Betrem, J.G., 1950. The control of the mosquito blight on the cacao in Java in: Proceedings of the Eighth International Congress of Entomology, Stockholm, 1948. Presented at the Proceedings of the Eighth International Congress of Entomology, Stockholm, 1948.
- Bhaskar, H., Ragesh, G., Zachariah, G., Mathew, J., 2015. Population dynamics of tea mosquito bug, *Helopeltis antonii* signoret (hemiptera: miridae), in young cashew plantation of cashew research station, Madakkathara, Kerala. Acta Hortic. 423–428. doi:10.17660/ActaHortic.2015.1080.56
- Birch, L., 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. J. Anim. Ecol. 15–26.
- Bisseleua, D.H.B., Yede, Vidal, S., 2011. Dispersion Models and Sampling of Cacao Mirid Bug *Sahlbergella singularis* (Hemiptera: Miridae) on *Theobroma Cacao* in Southern Cameroon. Environ. Entomol. 40, 111–119. doi:10.1603/EN09101
- Blackmer, J.L., Byers, J.A., Rodriguez-Saona, C., 2008. Evaluation of color traps for monitoring *Lygus* spp.: Design, placement, height, time of day, and non-target effects. Crop Prot. 27, 171–181. doi:10.1016/j.cropro.2007.05.003
- Boivin, G., Stewart, R.K., Rivard, I., 1982. Sticky Traps for Monitoring Phytophagous Mirids (Hemiptera: Miridae) in an Apple Orchard in Southwestern Quebec. Environ. Entomol. 11, 1067–1070. doi:10.1093/ee/11.5.1067
- Boyd, D.W., 2003. Digestive Enzymes and Stylet Morphology of *Deraeocoris nigrifolius* (Uhler) (Hemiptera: Miridae) Reflect Adaptations for Predatory Habits. Ann. Entomol. Soc. Am. 96, 667–671. doi:10.1603/0013-8746(2003)096[0667:DEASMO]2.0.CO;2
- Boyd, D.W., Alverson, D.R., 2003. Predation of aphids on caged oak (*Quercus* sp.) saplings in a greenhouse by *Deraeocoris nebulosus* (Hemiptera: Miridae). J. Agric. Urban Entomol. 20, 55–58.

- Boyd, D.W., Cohen, A.C., Alverson, D.R., 2002. Digestive Enzymes and Stylet Morphology of *Deraeocoris nebulosus* (Hemiptera: Miridae), a Predacious Plant Bug. Ann. Entomol. Soc. Am. 95, 395–401. doi:10.1603/0013-8746(2002)095[0395:DEASMO]2.0.CO;2
- Brent, C.S., 2015. Diapause response to photoperiod in an Arizona population of *Lygus hesperus*. J. Entomol. Sci. 50, 238–247.
- Brent, C.S., 2012. Classification of diapause status by color phenotype in *Lygus hesperus*. J. Insect Sci. 12, 136.
- Brozek, J.O., Herczek, A., 2004. Internal structure of the mouthparts of true bugs (Hemiptera: Heteroptera). Pol. Pismo Entomol. 73, 2.
- Bruneau de Miré, P., 1977. Dynamique des populations de mirides et ses implications. Mirides Cacaoyer.
- Brun, L.A., Sounigo, O., Coulibaly, N., Cilas, C., 1997. Methods of analysis for studying cocoa (*Theobroma cacao* L.) susceptibility to mirids. Euphytica 94, 349–359.
- Calvo, J., Bolckmans, K., Stansly, P.A., Urbaneja, A., 2009. Predation by *Nesidiocoris tenuis* on *Bemisia tabaci* and injury to tomato. BioControl 54, 237–246. doi:10.1007/s10526-008-9164-y
- Canzano, A.A., Jones, R.E., Seymour, J.E., 2003. Diapause termination in two species of tropical butterfly, *Euploea core* (Cramer) and *Euploea sylvester* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae). Aust. J. Entomol. 42, 352–356. doi:10.1046/j.1440-6055.2003.00366.x
- Carayon, J., 1989. Parthénogenèse constante prouvée chez deux Hétéroptères: le Miride *Campyloneura virgula* et l'Anthocoride *Calliodis maculipennis*. Ann. Société Entomol. Fr. 25, 387–391.
- Carvalho, J.C., 1952. On the major classification of the Miridae (Hemiptera). (With keys to subfamilies and tribes and a catalogue of the world genera.). An. Acad. Bras. Cienc. 24, 31–110.
- Carvalho, J.C.M., 1960. A catalogue of the Miridae of the world. Part V. Rio de Janeiro, Arquivos do Museu Nacional.
- Carvalho, J.C.M., 1959. A catalogue of the Miridae of the world. Part IV. Rio de Janeiro, Arquivos do Museu Nacional.
- Carvalho, J.C.M., 1958a. A catalogue of the Miridae of the world. Part II. Rio de Janeiro, Arquivos do Museu Nacional.

- Carvalho, J.C.M., 1958b. A catalogue of the Miridae of the world. Part III. Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro.
- Carvalho, J.C.M., 1957. A catalogue of the Miridae of the world. Part I. Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro.
- Cassis, G., 2008. The Lattinova Complex of Austromirine Plant Bugs (Hemiptera: Heteroptera: Miridae: Orthotylinae), in: Proceedings of the Entomological Society of Washington. pp. 845–939. doi:10.4289/0013-8797-110.4.845
- Cassis, G., Schuh, R.T., 2012. Systematics, Biodiversity, Biogeography, and Host Associations of the Miridae (Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha). Annu. Rev. Entomol. 57, 377–404. doi:10.1146/annurev-ento-121510-133533
- Cassis, G., Wall, M.A., Schuh, R.T., 2007. Insect biodiversity and industrialising the taxonomic process: the plant bug case study (Insecta: Heteroptera: Miridae). Syst. Assoc. Spec. Vol. 72, 193.
- Castañé, C., Alomar, O., Goula, M., Gabarra, R., 2004. Colonization of tomato greenhouses by the predatory mirid bugs *Macrolophus caliginosus* and *Dicyphus tamaninii*. Biol. Control 30, 591–597. doi:10.1016/j.biocontrol.2004.02.012
- Castañé, C., Alomar, Ò., Riudavets, J., Gemenó, C., 2007. Reproductive biology of the predator *Macrolophus caliginosus*: Effect of age on sexual maturation and mating. Biol. Control 43, 278–286. doi:10.1016/j.biocontrol.2007.08.009
- Castañé, C., Arnó, J., Gabarra, R., Alomar, O., 2011. Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. Biol. Control 59, 22–29. doi:10.1016/j.biocontrol.2011.03.007
- Castañé, C., Zapata, R., 2005. Rearing the predatory bug *Macrolophus caliginosus* on a meat-based diet. Biol. Control 34, 66–72. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.04.002
- Celorio-Mancera, M. de la P., Allen, M.L., Powell, A.L., Ahmadi, H., Salemi, M.R., Phinney, B.S., Shackel, K.A., Greve, L.C., Teuber, L.R., Labavitch, J.M., 2008. Polygalacturonase causes lygus-like damage on plants: cloning and identification of western tarnished plant bug (*Lygus hesperus*) polygalacturonases secreted during feeding. Arthropod-Plant Interact. 2, 215–225. doi:10.1007/s11829-008-9050-7
- China, W.E., 1953. Two new species of the genus *Cyrtopeltis* (Hemiptera) associated with sundews in Western Australia. West Aust Nat 1–8.
- Chippendale, G.M., 1982. Insect Diapause, the Seasonal Synchronization of Life Cycles, and Management Strategies. Entomol. Exp. Appl. 31, 24–35. doi:10.1111/j.1570-7458.1982.tb03116.x

- Chougule, N.P., Bonning, B.C., 2012. Toxins for transgenic resistance to hemipteran pests. *Toxins* 4, 405–429. doi:10.3390/toxins4060405
- Clare, G., Suckling, D.M., Bradley, S.J., Walker, J.T.S., Shaw, P.W., Daly, J.M., McLaren, G.F., Wearing, C.H., 2000. Pheromone trap colour determines catch of non-target insects, in: *Proceedings of the New Zealand Plant Protection Conference*. New Zealand Plant Protection Society; 1998, pp. 216–220.
- Cobben, R.H., 1978. Evolutionary Trends in Heteroptera. Part II. Mouthpart Structures and Feeding Strategies. *Meded Landbouwhogeschool*. 78-5 1978 407 Pp 78.
- Cohen, A.C., 1998a. Biochemical and morphological dynamics and predatory feeding habits in terrestrial Heteroptera. *Predatory Heteroptera Their Ecol. Use Biol. Control* 21–32.
- Cohen, A.C., 1998b. Solid-to-Liquid Feeding: The Inside(s) Story of Extra-Oral Digestion in Predaceous Arthropoda. *Am. Entomol.* 44, 103–117. doi:10.1093/ae/44.2.103
- Cohen, A.C., 1996. Plant feeding by predatory Heteroptera: evolutionary and adaptational aspects of trophic switching, in: *Zoophytophagous Heteroptera: Implications for Life History and Integrated Pest Management*. Alomar and R. N. Wiedenmann, Lanham, MD, pp. 1–17.
- Cohen, A.C., 1995. Extra-Oral Digestion in Predaceous Terrestrial Arthropoda. *Annu. Rev. Entomol.* 40, 85–103. doi:10.1146/annurev.en.40.010195.000505
- Cohen, A.C., 1993. Organization of digestion and preliminary characterization of salivary trypsin-like enzymes in a predaceous heteropteran, *Zelus renardii*. *J. Insect Physiol.* 39, 823–829. doi:10.1016/0022-1910(93)90114-7
- Cohen, A.C., 1990. Feeding Adaptations of Some Predaceous Hemiptera. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 83, 1215–1223. doi:10.1093/aesa/83.6.1215
- Cohen, A. C. (2000). How carnivorous bugs feed. *Heteroptera of economic importance*, 563-570.
- Colebatch, G., East, P., Cooper, P., 2001. Preliminary characterisation of digestive proteases of the green mirid, *Creontiades dilutus* (Hemiptera: Miridae). *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31, 415–423. doi:10.1016/S0965-1748(00)00136-3
- Coll, M., Guershon, M., 2002. Omnivory in terrestrial arthropods: Mixing Plant and Prey Diets. *Annu. Rev. Entomol.* 47, 267–297. doi:10.1146/annurev.ento.47.091201.145209
- Cooper, W.R., Nicholson, S.J., Puterka, G.J., 2013. Salivary Proteins of *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 106, 86–92. doi:10.1603/AN12096

- Danks, H.V., 1978. modes of seasonal adaptation in the insects: I. winter survival. *Can. Entomol.* 110, 1167–1205. doi:10.4039/Ent1101167-11
- Denlinger, D.L., 1986. Dormancy in Tropical Insects. *Annu. Rev. Entomol.* 31, 239–264. doi:10.1146/annurev.en.31.010186.001323
- Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J.-M., 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu Rev Entomol* 52, 81–106.
- Devasahayam, S., Nair, C.P.R., 1986. The tea mosquito bug *Helopeltis antonii* Signoret on cashew in India. *J. Plant. Crops* 14, 1–10.
- Dibog, L., Babin, R., Mbang, J.A.A., Decazy, B., Nyassé, S., Cilas, C., Eskes, A.B., 2008. Effect of genotype of cocoa (*Theobroma cacao*) on attractiveness to the mirid *Sahlbergella singularis* (Hemiptera: Miridae) in the laboratory. *Pest Manag. Sci.* 64, 977–980. doi:10.1002/ps.1589
- Dingle, H., 1978. Migration and Diapause in Tropical, Temperate, and Island Milkweed Bugs, in: Dingle, H. (Ed.), *Evolution of Insect Migration and Diapause*. Springer US, New York, NY, pp. 254–276.
- Dong-Soon, K., Cho, M.-R., Lee, J.-H., Jeon, H.-Y., Choi, Y.-M., 2002. Seasonal Migration of *Apolygus spinolae* (Hemiptera: Miridae) between Grapevines and Herbaceous Plants. *J. Asia-Pac. Entomol.* 5, 91–95. doi:10.1016/S1226-8615(08)60136-3
- Dormon, E. n. a., van Huis, A., Leeuwis, C., 2007. Effectiveness and profitability of integrated pest management for improving yield on smallholder cocoa farms in Ghana. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 27, 27–39. doi:10.1017/S1742758407727418
- Dunn, J.A., 1963a. Insecticide Resistance in the Cocoa Capsid, *Distantiella theobroma* (Dist.). *Nature* 199, 1207–1207. doi:10.1038/1991207a0
- Dunn, J.A., 1963b. The Resistance Pattern in a Strain of the Cocoa Capsid (*Distantiella theobroma* (Dist.)) Resistant to Bhc. *Entomol. Exp. Appl.* 6, 304–308. doi:10.1111/j.1570-7458.1963.tb00629.x
- Du Toit, W.J., Steyn, W.P., De Beer, M.S., 1993. Occurrence of protusions on avocado fruit and the causative agent. *South Afr. Avocado Grow. Assoc. Yearb.* 16, 100–102.
- Easterbrook, M.A., Tooley, J.A., 1999. Assessment of trap plants to regulate numbers of the European tarnished plant bug, *Lygus rugulipennis*, on late-season strawberries. *Entomol. Exp. Appl.* 92, 119–125.
- Entwistle, P.F., 1972. *Pests of cocoa*. XXIV 779 pp.

- Esperk, T., Tammaru, T., Nylin, S., 2007. Intraspecific Variability in Number of Larval Instars in Insects. J. Econ. Entomol. 100, 627–645. doi:10.1603/0022-0493(2007)100[627:IVINOL]2.0.CO;2
- Esquivel, J.F., Mowery, S.V., 2007. Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in Central Texas. Environ. Entomol. 36, 725–730. doi:10.1603/0046-225X(2007)36[725:HPOTTP]2.0.CO;2
- Etienne, J., Roura, A., 1974. Note sur l'entomofaune des manguiers à la Réunion, in: Rapport Annuel de l'IRAT. IRAT, Saint-Denis, La Réunion, pp. 89–92.
- Eubanks, M.D., Styrsky, J.D., 2005. Effects of plant feeding on the performance of omnivorous ? predators?, in: Plant-Provided Food for Carnivorous Insects. Cambridge University Press.
- Ferran, A., Rortais, A., Malausa, J.C., Gambier, J., Lambin, M., 1996. Ovipositional behaviour of *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae) on tobacco leaves. Bull. Entomol. Res. 86, 123–128.
- Fountain, M., Cross, J., Jaastad, G., Farman, D., Hall, D., Brown, M., Fitzgerald, J., Yohalem, D., others, 2010. Developing an effective trap and lure to monitor *Lygus rugulipennis*. IOBCwprs Bull. 54, 47–51.
- Fountain, M., Jaastad, G., Hall, D., Douglas, P., Farman, D., Cross, J., 2014. Further studies on sex pheromones of female *Lygus* and related bugs: development of effective lures and investigation of species-specificity. J. Chem. Ecol. 40, 71–83.
- Fрати, F., Galletti, R., De Lorenzo, G., Salerno, G., Conti, E., 2006. Activity of endopolygalacturonases in mirid bugs (Heteroptera: Miridae) and their inhibition by plant cell wall proteins (PGIPs). Eur. J. Entomol. 103, 515.
- Fréchette, B., Rojo, S., Alomar, O., Lucas, É., 2007. Intraguild predation between syrphids and mirids: who is the prey? Who is the predator? BioControl 52, 175–191. doi:10.1007/s10526-006-9028-2
- Godfrey, L.D., Leigh, T.F., 1994. Alfalfa Harvest Strategy Effect on Lygus Bug (Hemiptera: Miridae) and Insect Predator Population Density: Implications for Use as Trap Crop in Cotton. Environ. Entomol. 23, 1106–1118. doi:10.1093/ee/23.5.1106
- Goodchild, A.J.P., 1966. Evolution of the Alimentary Canal in the Hemiptera. Biol. Rev. 41, 97–139. doi:10.1111/j.1469-185X.1966.tb01540.x
- Goodchild, A.J.P., 1952. A study of the digestive system of the West African cacao capsid bugs (Hemiptera Miridae). Proc Zool Soc Lond 543–572.

- Gregg, P.C., Fitt, G.P., Zalucki, M.P., Murray, D.A.H., McDonald, G., 1993. Winter Breeding and Spring Migration of *Helicoverpa* Spp in Inland Australia, 1989-1991, in: Pest Control. pp. 460–463.
- Gurusubramanian, G., Bora, S., 2007. Relative toxicity of some commonly used insecticides against adults of *Helopeltis theivora* Waterhouse (Miridae: Hemiptera) collected from Jorhat area tea Plantations, South Assam, India. Resist. Pest Manag. Newsl. 17, 8–12.
- Habibi, J., Backus, E.A., Coudron, T.A., Brandt, S.L., 2001. Effect of different host substrates on hemipteran salivary protein profiles. Entomol. Exp. Appl. 98, 369–375.
- Hagler, J.R., Allen, C.C., Bradley-dunlop, D., Enriquez, F.J., 1992. Field evaluation of predation on *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) using a species-and stage-specific monoclonal antibody. Environ. Entomol. 21, 896–900.
- Hagler, J.R., Jackson, C.G., Blackmer, J.L., 2010. Diet Selection Exhibited by Juvenile and Adult Lifestages of the Omnivores Western Tarnished Plant Bug, *Lygus hesperus* and Tarnished Plant Bug, *Lygus lineolaris*. J. Insect Sci. 10, 1–13. doi:10.1673/031.010.12701
- Hahn, D.A., Denlinger, D.L., 2011. Energetics of Insect Diapause. Annu. Rev. Entomol. 56, 103–121. doi:10.1146/annurev-ento-112408-085436
- Hamdi, F., Chadoeuf, J., Chermiti, B., Bonato, O., 2013. Evidence of Cannibalism in *Macrolophus pygmaeus*, a Natural Enemy of Whiteflies. J. Insect Behav. 26, 614–621. doi:10.1007/s10905-013-9379-3
- Harris, V.E., Todd, J.W., Mullinix, B.G., 1984. Color change as an indicator of adult diapause in the southern green stink bug, *Nezara viridula*. J. Agric. Entomol. 1, 82–91.
- Haseeb, M., 2007. Current status of insect pest problems in guava. Acta Hort. 453–467. doi:10.17660/ActaHortic.2007.735.63
- Hazarika, L.K., Bhuyan, M., Hazarika, B.N., 2009. Insect Pests of Tea and Their Management. Annu. Rev. Entomol. 54, 267–284. doi:10.1146/annurev.ento.53.103106.093359
- Hendrix, W.H., Mueller, T.F., Phillips, J.R., Davis, O.K., 1987. Pollen as an indicator of long-distance movement of *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). Environ. Entomol. 16, 1148–1151.
- Henry, T.J., Wheeler, A.G., 1988. Family Miridae Hahn, 1833 (= Capsidae Burmeister). The plant bugs, in: Catalog of the Heteroptera, or True Bugs, of Canada and the Continental United States. E.J. Brill, pp. 251–507.

- Hereward, J.P., Walter, G.H., 2012. Molecular interrogation of the feeding behaviour of field captured individual insects for interpretation of multiple host plant use.
- Hereward, J.P., Walter, G.H., DeBarro, P.J., Lowe, A.J., Riginos, C., 2013. Gene flow in the green mirid, *Creontiades dilutus* (Hemiptera: Miridae), across arid and agricultural environments with different host plant species. *Ecol. Evol.* 3, 807–821. doi:10.1002/ece3.510
- Herianto, H., Syahputra, E., Ramadhan, T.H., 2015. Insecticidal Activity Seed Extract of *Cerbera sp.* against *Helopeltis antonii* Sign (Hemiptera; Miridae). *J. Sains Mhs. Pertan.* 4.
- Hiremath, I.G., Viraktamath, C.A., 1992. Biology of the sorghum earhead bug, *Calocoris angustatus* (Hemiptera: Miridae) with description of various stages. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 13, 447–457. doi:10.1017/S1742758400013758
- Hokkanen, H.M., 1991. Trap cropping in pest management. *Annu. Rev. Entomol.* 36, 119–138.
- Holopainen, J.K., Raiskio, S., Wulff, A., 2008. Blue sticky traps are more efficient for the monitoring of *Lygus rugulipennis* (Heteroptera: Miridae) than yellow sticky traps. *Agric. Food Sci.* 10, 277–284.
- Holopainen, J.K., Varis, A.-L., 1991. Host plants of the European tarnished plant bug *Lygus rugulipennis* Poppius (Het., Miridae). *J. Appl. Entomol.* 111, 484–498. doi:10.1111/j.1439-0418.1991.tb00351.x
- Horton, D.R., Lewis, T.M., 2000. Seasonal distribution of *Anthocoris* spp. and *Deraeocoris brevis* (Heteroptera: Anthocoridae, Miridae) in orchard and non-orchard habitats of central Washington. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93, 476–485.
- Houillier, M., 1964. Régime alimentaire et disponibilité de ponte des Miridés dissimulés du cacaoyer. *Rev Path Vég Ent Agr Fr* 43, 195–200.
- Ingegno, B.L., Pansa, M.G., Tavella, L., 2011. Plant preference in the zoophytophagous generalist predator *Macrolophus pygmaeus* (Heteroptera: Miridae). *Biol. Control* 58, 174–181. doi:10.1016/j.biocontrol.2011.06.003
- Ingrisch, S., 1987. Oxygen consumption by developing and diapausing eggs of *Eupholidoptera smyrnensis* (Orthoptera: Tettigoniidae). *J. Insect Physiol.* 33, 861–865.
- Innocenzi, P.J., Hall, D., Cross, J.V., Hesketh, H., 2005. Attraction of male European tarnished plant bug, *Lygus rugulipennis* to components of the female sex pheromone in the field. *J. Chem. Ecol.* 31, 1401–1413.

- Innocenzi, P.J., Hall, D.R., Cross, J.V., Masuh, H., Phythian, S.J., Chittamaru, S., Guarino, S., 2004. Investigation of long-range female sex pheromone of the European tarnished plant bug, *Lygus rugulipennis*: chemical, electrophysiological, and field studies. *J. Chem. Ecol.* 30, 1509–1529.
- Insa, G., Rossolin, G., Vincenot, D., 2002. La Mangue - Dossier Technico-Economique, 2nd ed. Chambre d'agriculture de La Réunion, Saint-Pierre, La Réunion.
- Iriarte, J., Castañé, C., 2001. Artificial Rearing of *Dicyphus tamaninii* (Heteroptera: Miridae) on a Meat-Based Diet. *Biol. Control* 22, 98–102. doi:10.1006/bcon.2001.0951
- Jackson, R.E., Allen, K.C., Snodgrass, G.L., Krutz, L.J., Gore, J., Perera, O.P., Price, L.D., Mullen, R.M., 2014. Influence of Maize and Pigweed on Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) Populations Infesting Cotton. *Southwest. Entomol.* 39, 391–400. doi:10.3958/059.039.0301
- Jalgaonkar, V.N., Chavan, S.A., Patil, P.D., Naik, K.V., 2015. Evaluation of some newer insecticides for control of tea mosquito bug (*Helopeltis antonii*) in cashew. *Acta Hort.* 465–468. doi:10.17660/ActaHortic.2015.1080.63
- Jalgaonkar, V.N., Gawankar, M.S., Bendale, V.W., Patil, P.D., others, 2009. Efficacy of some insecticides against cashew tea mosquito bug *Helopeltis antonii* Sign. *J. Plant Prot. Sci.* 1, 96–97.
- Jayanthi, P.D., Verghese, A., 2007. Management of tea mosquito bug, *Helopeltis antonii* Sign. using neem seed kernel spray in guava crop. *J. Entomol. Res.* 31, 15–18.
- Jeevaratnam, K., Rajapakse, R.H.S., 1981. Biology of *Helopeltis antonii* Sign. (Heteroptera: Miridae) in Sri Lanka. *Entomon.*
- Johnson, C.G., 1962. Capids: a review of current knowledge, in: *Agriculture and Land Use in Ghana*. Wills J. B., London, U.K., pp. 316–331.
- Jones, G.D., Allen, K.C., 2013. Pollen analyses of tarnished plant bugs. *Palynology* 37, 170–176. doi:10.1080/01916122.2013.763508
- Jones, G.D., Allen, K.C., 2012. Using *Amaranthus palmeri* pollen to mark captured tarnished plant bugs. *Palynology* 36, 153–161. doi:10.1080/01916122.2012.662178
- Jones, G.D., Coppedge, J.R., 2000. Foraging resources of adult Mexican corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) in Bell County, Texas. *J. Econ. Entomol.* 93, 636–643.
- Jones, G.D., Coppedge, J.R., 1999. Foraging resources of boll weevils (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 92, 860–869.
- Jones, G.D., Greenberg, S.M., 2009. Cotton pollen retention in boll weevils: a laboratory experiment. *Palynology* 33, 157–165.

- Jones, G.D., Greenberg, S.M., Eischen, F.A., 2007. Almond, melon, and pigweed pollen retention in the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Palynology* 31, 81–93.
- Jones, R.E., 1987. Reproductive strategies for the seasonal tropics. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 8, 515–521. doi:10.1017/S1742758400022566
- Jung, S., Lee, S., 2012. Molecular phylogeny of the plant bugs (Heteroptera: Miridae) and the evolution of feeding habits. *Cladistics* 28, 50–79. doi:10.1111/j.1096-0031.2011.00365.x
- Justin, C., Nirmalatha, J.D., Jayasekhar, M., 2007. Management of tea mosquito bug *Helopeltis antonii* S. on cashew. *Agric. Sci. Dig.* 27, 154–155.
- Jutsum, A.R., Gordon, R.F.S., 1989. Insect pheromones in plant protection. 369 pp.
- Jutsum, A.R., Gordon, R.F.S., others, 1989. Insect pheromones in plant protection. John Wiley & Sons Limited.
- Kalyani, K.S., Krishnamurthy, V., Rao, C.C.S., Kumari, N.A., 2010. Front Line Demonstration on Management of Tea Mosquito Bug. *Indian J. Plant Prot.* 38, 95–97.
- Karmawati, E., Wahyono, T.E., Savitri, T.H., Laba, I.W., 1999. Population dynamic of *Helopeltis antonii* sign. on cashew. *J. Penelit. Tanam. Ind. Indones.*
- Kemp, D.J., 2001. Reproductive seasonality in the tropical butterfly *Hypolimnys bolina* (Lepidoptera: Nymphalidae) in northern Australia. *J. Trop. Ecol.* 17, 483–494.
- King, A.B.S., 1973. Studies of Sex Attraction in the Cocoa Capsid, *Distantiella Theobroma* (heteroptera: Miridae). *Entomol. Exp. Appl.* 16, 243–254. doi:10.1111/j.1570-7458.1973.tb00270.x
- Knop Wright, M., Brandt, S.L., Coudron, T.A., Wagner, R.M., Habibi, J., Backus, E.A., Huesing, J.E., 2006. Characterization of digestive proteolytic activity in *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae). *J. Insect Physiol.* 52, 717–728. doi:10.1016/j.jinsphys.2006.03.012
- Kobayashi, S., Numata, H., 1995. Effects of Temperature and Photoperiod on the Induction of Diapause and the Determination of Body Coloration in the Bean Bug, *Riptortus clavatus*. *Zoolog. Sci.* 12, 343–348. doi:10.2108/zsj.12.343
- Kotaki, T., 1998. Effects of low temperature on diapause termination and body colour change in adults of a stink bug, *Plautia stali*. *Physiol. Entomol.* 23, 53–61. doi:10.1046/j.1365-3032.1998.2310053.x
- Kouame, N., N'Guessan, F., N'Guessan, H., N'Guessan, P., Tano, Y., 2015. Variations saisonnières des populations de mirides du cacaoyer dans la région de l'Indénié-Djuablin en Côte d'Ivoire. *J. Appl. Biosci.* 83, 7595. doi:10.4314/jab.v83i1.2

- Kullenberg, B., 1944. Studien iiber die Biologie der Capsiden. Zool Bidr. F Upps. XXIII.
- Kumar, A., Musser, F.R., 2010. Tarnished plant bug movement in a cotton/corn ecosystem, in: Beltwide Cotton Conference. pp. 1171–1175.
- Kumar, A., Musser, F.R., 2009. Intra and Inter- Crop Movement of Tarnished Plant Bugs. Proc. Beltwide Cotton Conf. 2009, 852–856.
- Kumar, R., Ansari, A.K., 1974. Biology, immature stages and rearing of cocoa-capsids (Miridae: Heteroptera). Zool. J. Linn. Soc. 54, 1–29. doi:10.1111/j.1096-3642.1974.tb00791.x
- Kumar, V., Kumar, A., Nath, V., 2013. Emerging pests and diseases of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). Pest Manag. Hortic. Ecosyst. 17, 11–13.
- Lachenaud, P., Paulin, D., Ducamp, M., Thevenin, J.-M., 2007. Twenty years of agronomic evaluation of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. Sci. Hortic. 113, 313–321. doi:10.1016/j.scienta.2007.05.016
- Lavabre, E.M., 1977a. Importance économique des Mirides dans la cacaoculture mondiale, in: Les mirides du cacaoyer. E.M. Lavabre, pp. 139–153.
- Lavabre, E.M., 1977. Les mirides du cacaoyer. Institut français du café et du cacao.
- Lavabre, E.M., 1977b. Variations saisonnières des populations, in: Les Mirides Du Cacaoyer. pp. 155–170.
- Lavabre, E.M., 1969. Recent progress in breeding certain pests of African cocoa in the laboratory. Fao Plant Prot. Bull.
- Lavabre, E.M., Decelle, J., Debord, P., 1962. Recherches sur les variations des populations de Mirides en Côte d'Ivoire. Café Cacao Thé 6, 287–295.
- Leston, D., 1970. Entomology of the cocoa farm. Annu. Rev. Entomol. 15, 273–294.
- Lingren, P.D., Bryant, V.M., Raulston, J.R., Pendleton, M., Westbrook, J., Jones, G.D., 1993. Adult feeding host range and migratory activities of com earworm, cabbage looper, and celery looper (Lepidoptera: Noctuidae) moths as evidenced by attached pollen. J. Econ. Entomol. 86, 1429–1439.
- Linnaeus, C., 1758. Systema Naturae, 10th ed. L. Salvii.
- Liu, Y., Wu, K., Xue, F., 2007. Progress on the studies of Miridae resistance management.
- Los, L., Legrand, A., 2003. Visual responses of *Lygus lineolaris* and *Lygocoris* spp. (Hemiptera: Miridae) on peaches. Fla. Entomol. 86, 424–428.
- Lotodé, R., 1969. Etude statistique de l'évolution d'une population de Mirides. Café Cacao Thé 13, 216–220.

- Loublier, Y., Douault, P., Causse, R., Barthes, J., Bues, R., Poitout, S.-H., 1994. Utilisation des spectres polliniques recueillis sur *Agrotis* (*Scotia*) *ipsilon* Hufnagel (Noctuidae) comme indicateur des migrations. *Grana* 33, 276–281.
- Lowor, S.T., 2009. Potential for Pheromone Based Attract-and-Kill and Mating Disruption of the Green Mirid, *Creontiades dilutus* (Stål) (Hemiptera: Miridae). *Int J Agric Res* 4, 153–162.
- Lowor, S.T., Del Socorro, A.P., Gregg, P.C., others, 2009. Sex pheromones of the green mirid, *Creontiades dilutus* (Stål) (Hemiptera: Miridae). *Int. J. Agric. Res.* 4, 137–145.
- Lucas, É., Alomar, O., 2002. Impact of the presence of *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) on whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) predation by *Macrolophus caliginosus* (Wagner) (Heteroptera: Miridae). *Biol. Control* 25, 123–128. doi:10.1016/S1049-9644(02)00054-3
- Lucas, É., Alomar, O., 2001. *Macrolophus caliginosus* (Wagner) as an Intraguild Prey for the Zoophytophagous *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae). *Biol. Control* 20, 147–152. doi:10.1006/bcon.2000.0890
- Lu, Y.H., Wu, K.M., Wyckhuys, K.A.G., Guo, Y.Y., 2009. Potential of mungbean, *Vigna radiatus* as a trap crop for managing *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae) on Bt cotton. *Crop Prot.* 28, 77–81. doi:10.1016/j.cropro.2008.08.018
- Lu, Y., Wu, K., 2011. Mirid Bugs in China: Pest Status and Management Strategies. *Outlooks Pest Manag.* 22, 248–252. doi:10.1564/22dec02
- Lu, Y., Wu, K., Jiang, Y., Guo, Y., Desneux, N., 2012. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. *Nature* 487, 362–365.
- Lykouressis, D., Giatropoulos, A., Perdakis, D., Favas, C., 2008. Assessing the suitability of noncultivated plants and associated insect prey as food sources for the omnivorous predator *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae). *Biol. Control* 44, 142–148. doi:10.1016/j.biocontrol.2007.11.003
- Ma, B.O., Davis, B.H., Gillespie, D.R., VanLaerhoven, S.L., 2009. Incorporating behaviour into simple models of dispersal using the biological control agent *Dicyphus hesperus*. *Ecol. Model.* 220, 3271–3279. doi:10.1016/j.ecolmodel.2009.08.022
- Mahapatro, G.K., 2008. Helopeltis management by chemicals in cashew: A critical concern. *Indian J. Entomol.* 70, 293.
- Mahob, R.J., Babin, R., ten Hoopen, G.M., Dibog, L., Yede, Hall, D.R., Bilong Bilong, C.F., 2011a. Field evaluation of synthetic sex pheromone traps for the cocoa mirid

- Sahlbergella singularis* (Hemiptera: Miridae). Pest Manag. Sci. 67, 672–676. doi:10.1002/ps.2107
- Mahob, R.J., Babin, R., ten Hoopen, G.M., Dibog, L., Yede, Hall, D.R., Bilong Bilong, C.F., 2011b. Field evaluation of synthetic sex pheromone traps for the cocoa mirid *Sahlbergella singularis* (Hemiptera: Miridae). Pest Manag. Sci. 67, 672–676. doi:10.1002/ps.2107
- Malipatil, M.B., 1992. Revision of Australian *Campylomma* Reuter (hemiptera: Miridae: Phylinae). Aust. J. Entomol. 31, 357–368. doi:10.1111/j.1440-6055.1992.tb00526.x
- Mau, R.F.L., Martin, J.L., 2007. *Hyalopeplus pellucidus* (Stal).
- Mau, R.F.L., Nishijima, K., 1989. Development of The Transparentwinged Plant Bug, *Hyalopeplus pellucidus* (Stal), A Pest of Cultivated Guava in Hawaii.
- Mayer, R.É., 2014. Notions de Géographie physique. Archives contemporaines.
- McGregor, R. r., Gillespie, D. R., Park, C. G., Quiring, D. M. J., Foisy, M. R. J., 2000. Leaves or fruit? The potential for damage to tomato fruits by the omnivorous predator, *Dicyphus hesperus*. Entomol. Exp. Appl. 95, 325–328. doi:10.1046/j.1570-7458.2000.00671.x
- McIver, J.D., Stonedahl, G., 1993. Myrmecomorphy: Morphological and Behavioral Mimicry of Ants. Annu. Rev. Entomol. 38, 351–377. doi:10.1146/annurev.en.38.010193.002031
- Mert, B.R., Hellqvist, S., Ekbom, B., Banks, J.E., 2001. Assessment of trap crops for *Lygus* spp. in lettuce. Int. J. Pest Manag. 47, 273–276. doi:10.1080/09670870110047127
- Micheli, F., Guiltinan, M., Gramacho, K.P., Wilkinson, M.J., Figueira, A.V. de O., Cascardo, J.C. de M., Maximova, S., Lanaud, C., 2010. Chapter 3 - Functional Genomics of Cacao, in: Delseny, J.-C.K. and M. (Ed.), Advances in Botanical Research. Academic Press, pp. 119–177.
- Miles, P.W., 1972. The Saliva of Hemiptera, in: J.E. Treherne, M.J.B. and V.B.W. (Ed.), Advances in Insect Physiology. Academic Press, pp. 183–255.
- Miles, P.W., 1964. Studies on the salivary physiology of plant bugs: The chemistry of formation of the sheath material. J. Insect Physiol. 10, 147–160. doi:10.1016/0022-1910(64)90103-9
- Millar, J.G., Rice, R.E., 1998. Sex pheromone of the plant bug *Phytocoris californicus* (Heteroptera: Miridae). J. Econ. Entomol. 91, 132–137.
- Millar, J.G., Rice, R.E., Wang, Q., 1997. Sex pheromone of the mirid bug *Phytocoris relativus*. J. Chem. Ecol. 23, 1743–1754.

- Miller, N.C.E., 1971. The Biology of the Heteroptera. E. W. Classey Ltd.
- Miller, N.C.E., 1941. Insects associated with Cocoa (*Theobroma cacao*) in Malaya. Bull. Entomol. Res. 32, 1–15. doi:10.1017/S0007485300005186
- Mitchell, P.L., 2004. Heteroptera as vectors of plant pathogens. Neotrop. Entomol. 33, 519–545. doi:10.1590/S1519-566X2004000500001
- Mpé, J.M., Vos, J., Neuenschwander, P., others, 2002. Integrated management of cocoa mirids in Cameroon., in: West Africa Regional Cocoa IPM Workshop, Cotonou, Benin, 13-15 November, 2001. Proceedings. CPL Press.
- Musolin, D.L., Fujisaki, K., Numata, H., 2007. Photoperiodic control of diapause termination, colour change and postdiapause reproduction in the southern green stink bug, *Nezara viridula*. Physiol. Entomol. 32, 64–72. doi:10.1111/j.1365-3032.2006.00542.x
- Musolin, D.L., Numata, H., 2004. Late-season induction of diapause in *Nezara viridula* and its effect on adult coloration and post-diapause reproductive performance. Entomol. Exp. Appl. 111, 1–6. doi:10.1111/j.0013-8703.2004.00137.x
- Naik, C.M., Chakravarthy, A.K., 2013. Sustainable management practices for tea mosquito bug *Helopeltis antonii* Signoret (Miridae:Hemiptera) on cashew. Karnataka J. Agric. Sci. 26.
- Naik, C.M., Chakravarthy, A.K., Timmanna, Thyagaraj, N.E., 2015. Sustainable Management of Tea Mosquito Bug *Helopeltis antonii* Signoret (Miridae: Hemiptera) on Cashew, in: Chakravarthy, A.K. (Ed.), New Horizons in Insect Science: Towards Sustainable Pest Management. Springer India, New Delhi, pp. 389–396.
- Nakasone, H.Y., Paull, R.E., 1998. Tropical fruits. Cab International, Wallingford, England.
- Neal, J.W., Haldemann, R.H., Henry, T.J., 1991. Biological Control Potential of a Japanese Plant Bug *Stethoconus japonicus* (Heteroptera: Miridae), an Adventive Predator of the Azalea Lace Bug (Heteroptera: Tingidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 84, 287–293. doi:10.1093/aesa/84.3.287
- N'Guessan, F.K., Coulibaly, N., 2000. Dynamique des populations de mirides et de quelques autres déprédateurs du cacaoyer dans la région Ouest de la Côte d'Ivoire, in: Proceedings of the 13th International Cocoa Research Conference. pp. 425–435.
- Nguyen-ban, J., 1977. La lutte chimique contre les mirides du cacaoyer, in: Les Mirides Du Cacaoyer. pp. 257–278.
- Niva, C.C., Takeda, M., 2002. Color changes in *Halyomorpha brevis* (Heteroptera: Pentatomidae) correlated with distribution of pteridines: regulation by environmental

- and physiological factors. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 132, 653–660.
- Nwana, I.E., Youdeowei, A., 1978. The spatial distribution of three species of Heteroptera in a cocoa farm in Ibadan, Nigeria. *Niger. J. Entomol.*
- Nwana, I.E., Youdeowei, A., 1977. The effect of relative humidity on the development and survival of the pre-imaginal stages of *Bathycoelia thalassina* (H-S) (Pentatomidae) and *Sahlbergella singularis* Hagl. (Miridae) in Nigeria. *J. Nat. Hist.* 11, 445–449. doi:10.1080/00222937700770351
- Padi, B., Ackonor, J.B., Opoku, I.Y., 2002. Cocoa IPM research and implementation in Ghana. CPL Press, pp. 54–62, 58–67 (Fr).
- Padi, B., Owusu, G.K., 2015. Towards an Integrated Pest Management for Sustainable Cocoa Production in Ghana.
- Page, W.W., 1980. Occurrence of the grasshopper pest *Zonocerus variegatus* (L.) (Orthoptera: Pyrgomorphidae) in south-western Nigeria in relation to the wet and dry seasons. *Bull. Entomol. Res.* 70, 621–633. doi:10.1017/S0007485300007914
- Pan, H., Lu, Y., Wyckhuys, K.A.G., 2013a. Early-Season Host Switching in *Adelphocoris* spp. (Hemiptera: Miridae) of Differing Host Breadth. *PLoS ONE* 8, e59000. doi:10.1371/journal.pone.0059000
- Pan, H., Lu, Y., Wyckhuys, K.A.G., Wu, K., 2013b. Preference of a Polyphagous Mirid Bug, *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) for Flowering Host Plants. *PLoS ONE* 8, e68980. doi:10.1371/journal.pone.0068980
- Parajulee, M.N., Shrestha, R.B., 2014. Metapopulation approach for landscape level management of western tarnished plant bug, *Lygus hesperus*, in Texas (Hemiptera ,Miridae). *Acta Phytophylacica Sin.* 41, 761–768.
- Pasupathy, S., 2000. Screening for tea mosquito bug, *Helopeltis antonii* Sign in guava. *Insect Environ.* 6, 35–36.
- Patil, G.R., Krishna Naik, L., 2010. Efficacy of Chemical Insecticides and Botanicals Against *Helopeltis antonii* Signoret on Guava. *Karnataka J. Agric. Sci.* 17.
- Peña, J.E., 2003. Pests of avocado in Florida, in: *Proceedings V World Avocado Congress*. pp. 487–494.
- Peña, J.E., Sharp, J.L., 2002. Tropical Fruit Pests and Pollinators: Biology, Economic Importance, Natural Enemies, and Control. CABI Pub.
- Peng, R.K., Christian, K., 2008. The dimpling bug, *Campylomma austrina* Malipatil (Hemiptera: Miridae): the damage and its relationship with ants in mango orchards in

- the Northern Territory of Australia. *Int. J. Pest Manag.* 54, 173–179. doi:10.1080/09670870701875243
- Peng, R.K., Christian, K., Gibb, K., 1997. Control threshold analysis for the tea mosquito bug, *Helopeltis perniciosa* (Hemiptera: Miridae) and preliminary results concerning the efficiency of control by the green ant, *Oecophylla smaragdina* (Hymenoptera: Formicidae) in northern Australia. *Int. J. Pest Manag.* 43, 233–237. doi:10.1080/096708797228735
- Perdikis, D.C.H., Lykouressis, D.P., 2004. *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) Population Parameters and Biological Characteristics When Feeding on Eggplant and Tomato Without Prey. *J. Econ. Entomol.* 97, 1291–1298. doi:10.1603/0022-0493-97.4.1291
- Perdikis, D., Fantinou, A., Lykouressis, D., 2011. Enhancing pest control in annual crops by conservation of predatory Heteroptera. *Biol. Control, Heteropteran Predators and Their Role in Biological Control in Agroecosystems* 59, 13–21. doi:10.1016/j.biocontrol.2011.03.014
- Perdikis, D., Lykouressis, D., 2000. Effects of Various Items, Host Plants, and Temperatures on the Development and Survival of *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae). *Biol Control* 55–60.
- Perdikis, D., Lykouressis, D., 1997. Rate of development and mortality of nymphal stages of the predator *Macrolophus pygmaeus* Rambur feeding on various preys and host plants. *IOBCWPRS Bull* 241–248.
- Piart, J., 1972. Incidence du régime alimentaire sur le cycle biologique du Miride du cacaoyer *Distantiella theobromae* Dist. : fécondité des femelles. ORSTOM, Adiopodoumé.
- Piart, J., 1970. Etude de quelques caractéristiques biologiques du Miride du cacaoyer *Distantiella theobromae* Dist. au moyen d'un élevage au laboratoire. *Café Cacao Thé* 14, 28–38.
- Pieloor, M.J., Seymour, J.E., 2001. Factors affecting adult diapause initiation in the tropical butterfly *Hypolimnys bolina* L. (Lepidoptera: Nymphalidae). *Aust. J. Entomol.* 40, 376–379. doi:10.1046/j.1440-6055.2001.00242.x
- Pillai, G.B., Abraham, V.A., 1975. Tea mosquito--a serious menace to cashew. *Indian Cashew J.*
- Pillai, G.B., Dubey, O.P., Singh, V., 1976. Pests of cashew and their control in India - A review of current status. *J. Plant. Crops* 4, 37–50.

- Portillo, N., Alomar, O., Wäckers, F., 2012. Nectarivory by the plant-tissue feeding predator *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Heteroptera: Miridae): Nutritional redundancy or nutritional benefit? J. Insect Physiol. 58, 397–401. doi:10.1016/j.jinsphys.2011.12.013
- Prins, G., 1965. A laboratory rearing method for the cocoa Mirid *Distantiella theobroma* (Dist.) (Hemiptera, Miridae). Bull. Entomol. Res. 55, 615–616. doi:10.1017/S0007485300049725
- Pujol, R., 1957. Etude préliminaire des principaux insectes nuisibles aux Colatiers. J. Agric. Trop. Bot. Appliquée 4, 241–264. doi:10.3406/jatba.1957.2395
- Pullin, A., Bale, J., 1989. Influence of diapause and temperature on cryoprotectant synthesis and cold hardiness in pupae of *Pieris brassicae*. Comp. Biochem. Physiol. A Physiol. 94, 499–503. doi:10.1016/0300-9629(89)90128-X
- Ragumoorthi, K.N., Arumugam, R., 1996. Control of guava tea mosquito bug *Helopeltis antonii* Sign. (Miridae: Hemiptera) with insecticides and botanicals. Indian J. Plant Prot. 24, 1–5.
- Rajmohana, K., Srikumar, K.K., Bhat, P.S., Raviprasad, T.N., Jalali, S.K., 2013. A new species of platygastid *Telenomus cuspid* sp. nov. (Hymenoptera), egg parasitoid of tea mosquito bug from India, with notes on its bionomics and mtCo1 data. Orient. Insects 47, 226–232. doi:10.1080/00305316.2013.871819
- Ratnadass, A., Moore, S., 2014. *Citrus* spp. (Rutaceae) cited for the first time as a host plant for *Eurystylus capensis* (Hemiptera, Miridae). Bull. Soc. Entomol. Fr. 119, 197–198.
- Ratnadass, A., Rabo, Y., Salha, H., Matocq, A., Doumma, A., 2012. *Gynandropsis gynandra* (Capparidaceae) citée pour la première fois comme hôte d'*Eurystylus* spp. (Hemiptera, Miridae). Bull. Soc. Entomol. Fr. 117, 115–118.
- Raw, F., 1959. An Insectary Method for Rearing Cacao Mirids, *Distantiella theobroma* (Dist.) and *Sahlbergella singularis* Hagl. Bull. Entomol. Res. 50, 11–12. doi:10.1017/S0007485300054377
- Rieger, M., 2006. Introduction to Fruit Crops . CRC Publisher Press 2006.
- Reddy, P.V.R., 2009. Record of tea mosquito bug, *Helopeltis antonii* (Sign.) (Homoptera: Miridae) on the fruits of *Annona* spp. Pest Manag. Hortic. Ecosyst. 15, 74–76.
- Romani, R., Salerno, G., Frati, F., Conti, E., Isidoro, N., Bin, F., 2005. Oviposition behaviour in *Lygus rugulipennis*: a morpho-functional study. Entomol. Exp. Appl. 115, 17–25.
- Roubik, D.W., Michener, C.D., 1980. The Seasonal Cycle and Nests of *Epicharis zonata*, a Bee Whose Cells are below the Wet-Season Water Table (Hymenoptera, Anthophoridae). Biotropica 12, 56–60. doi:10.2307/2387773

- Roy, S., Gurusubramanian, G., Mukhopadhyay, A., 2010. Neem-based integrated approaches for the management of tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* Waterhouse (Miridae: Heteroptera) in tea. J. Pest Sci. 83, 143–148. doi:10.1007/s10340-009-0280-y
- Roy, S., Mukhopadhyay, A., Gurusubramanian, G., 2009. Varietal preference and feeding behaviour of tea mosquito bug (*Helopeltis theivora* Waterhouse) on tea plants (*Camellia sinensis*). Acad. J Entomol 2, 01–09.
- Ryan, M.F., 2002. Pheromones in Plant Protection, in: Insect Chemoreception. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 256–279.
- Sabelis, M.W., 1992. Predatory arthropods, in: Natural Enemies: The Population Biology of Predators, Parasites and Diseases. Crawley M. J., pp. 225–264.
- Sahu, K.R., Sharma, D., Paikra, M.S., Verma, L.S., Chaudhary, J.L., Rao, S.S., 2015. Influence of abiotic factors on changing scenario of tea mosquito bug (*Helopeltis antonii* sign.) Infestation on cashew in Chhattisgarh. Acta Hort. 415–422. doi:10.17660/ActaHortic.2015.1080.55
- Saleh, A., Sengonca, C., 2001. Life table of the predatory bug *Dicyphus tamaninii* Wagner (Het., Miridae) by feeding on *Aphis gossypii* Glover (Horn., Aphididae) as a prey / Biologie der räuberischen Wanze *Dicyphus tamaninii* Wagner (Het., Miridae) bei Ernährung mit *Aphis gossypii* Glover (Horn., Aphididae) als Beute. Z. Für Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz J. Plant Dis. Prot. 108, 608–615.
- Sanchez, J.A., Gillespie, D.R., McGregor, R.R., 2004. Plant preference in relation to life history traits in the zoophytophagous predator *Dicyphus hesperus*. Entomol. Exp. Appl. 112, 7–19. doi:10.1111/j.0013-8703.2004.00174.x
- Sanchez, J.A., McGregor, R.R., 2009. Sampling Plan for *Dicyphus hesperus* (Heteroptera: Miridae) on Greenhouse Tomatoes. Environ. Entomol. 31, 331–338. doi:10.1603/0046-225X-31.2.331
- Sarfo, J.E., 2013. Behavioural responses of cocoa mirids, *Sahlbergella singularis* Hagl and *Distantiella thoebroma* Dist. (Heteroptera: Miridae), to sex pheromones. University of Greenwich.
- Sarma, K.K., Pakrasi, D., Sudhakar, S., 2014. Impact of land use and land cover on infestation level of tea mosquito bug (*Helopeltis theivora* Waterhouse) in tea garden– a rs & gis approach. Int. J. Adv. Earth Environ. Sci. 2, 1–11.
- Sathiamma, B., 1984. Biology of tea mosquito *Helopeltis antonii* Signoret reared on mango seedling in the laboratory. Cashew Bull.

- Sathiamma, B., 1977. Nature and extent of damage by *Helopeltis antonii* S., the tea mosquito on cashew. J. Plant. Crops 5, 58–59.
- Saulich, A.K., Musolin, D.L., 1996. Univoltinism and its regulation in some temperate true bugs (Heteroptera). Eur J Entomol 93, 507–518.
- Schaefer, C.W., Panizzi, A.R., 2000. Heteroptera of Economic Importance. CRC Press.
- Schoonhoven, L.M., Loon, J.J.A. van, Dicke, M., 2005. Insect-plant biology xvii + 421 pp.
- Schuh, R.T., 2008. On-line systematic catalog of plant bugs (Insecta: Heteroptera: Miridae). [http:// research.amnh.org/pbi/catalog/](http://research.amnh.org/pbi/catalog/).
- Schuh, R.T., 1995. Plant Bugs of the World (Insecta, Heteroptera, Miridae): Systematic Catalog, Distributions, Host List, and Bibliography. New York Entomological Society.
- Schuh, R.T., 1974. The Orthotypinae and Phylinae (Hemiptera: Miridae) of South Africa with a phylogenetic analysis of the antmimetic tribes of the two subfamilies for the world. Entomol Am 47, 1–332.
- Schuh, R.T., Slater, J.A., 1995. True Bugs of the World (Hemiptera Heteroptera): Classification and Natural History. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Schuh, R.T., Weirauch, C., 2010. Myrtaceae-feeding Phylinae (Hemiptera, Miridae) from Australia: description and analysis of phylogenetic and host relationships for a monophyletic assemblage of three new genera. (Bulletin of the American Museum of Natural History, no. 344).
- Schuh, R.T., Weirauch, C., Wheeler, W.C., 2009. Phylogenetic relationships within the Cimicomorpha (Hemiptera: Heteroptera): a total-evidence analysis. Syst. Entomol. 34, 15–48. doi:10.1111/j.1365-3113.2008.00436.x
- Schuh RT. 1976. Pretarsal structure in the Miridae (Hemiptera) with a cladistic analysis of relationships within the family. Am. Mus. Novit. 2601:391–39
- Schwartz, M.D., 1984. A Revision of the Black Grass Bug Genus *Irbisia* Reuter (Heteroptera: Miridae). J. N. Y. Entomol. Soc. 92, 193–306.
- Sengonca, C., Saleh, A., 2002. Prey consumption of the predatory bug *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) during nymphal and adult stages by feeding on *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) as prey / Prädationsleistung der räuberischen Wanze *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) während des Nymphen- und Adultenstadiums bei Fütterung mit *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) als Beute. Z. Für Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz J. Plant Dis. Prot. 109, 430–439.

- Seymour, J.E., 1991. Aspects of the ecology of *Microgaster demolitor*, a larval parasitoid of *Helicoverpa punctigera* and *Helicoverpa armigera* in Australia (phd). James Cook University.
- Seymour, J.E., Jones, R.E., 2000. Humidity-terminated diapause in the tropical braconid parasitoid *Microplitis demolitor*. Ecol. Entomol. 25, 481–485. doi:10.1046/j.1365-2311.2000.00272.x
- Shelton, A.M., Badenes-Perez, F.R., 2006. Concepts and applications of trap cropping in pest management. Annu Rev Entomol 51, 285–308.
- Shipp, J.L., Wang, K., 2006. Evaluation of *Dicyphus hersperus* (Heteroptera: Miridae) for Biological Control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on Greenhouse Tomato. J. Econ. Entomol. 99, 414–420. doi:10.1603/0022-0493-99.2.414
- Sidibe, M., Williams, J.T., Hughes, A., Haq, N., Smith, R.W., 2002. Baobab, *Adansonia Digitata* L. Crops for the Future.
- Singh, V., Pillai, G.B., 1979. Field evaluation of the efficacy of four insecticides in the control of tea mosquito, in: International Cashew Symposium 108. pp. 302–304.
- Siswanto, Muhamad Awang, R., Omar, D., Elna Karmawati, 2008. Life tables and population parameters of *Helopeltis antonii* (Hemiptera: Miridae) reared on cashew (*Anacardium occidentale* L.). J. Biosci. 19, 91–101.
- Siswanto, R.M., Omar, D., Karmawati, E., 2008. Population Fluctuation of *Helopeltis antonii* Signoret on Cashew *Anacardium occidentale* L., in Java, Indonesia. Pertanika J Trop Agric Sci 31, 191–196.
- Smitha, M.S., Pushpalatha, P.B., 2014. Efficacy of different insecticides against tea mosquito bug, *Helopeltis antonii* Signoret (Hemiptera: Miridae) on cashew in Kerala. Pest Manag. Hortic. Ecosyst. 20, 245–248.
- Smith, E.S.C., 1977. Presence of a Sex Attractant Pheromone in *Helopeltis clavifer* (walker) (heteroptera: Miridae). Aust. J. Entomol. 16, 113–116. doi:10.1111/j.1440-6055.1977.tb00070.x
- Smith, R.F., Borden, J.H., 1990. Relationship between fall catches of *Campylomma verbasci* (Heteroptera: Miridae) in traps baited with females and density of nymphs in the spring. J. Econ. Entomol. 83, 1506–1509.
- Smith, R.F., Gaul, S.O., Borden, J.H., Pierce, H.D., 1994. Evidence for a sex pheromone in the apple brown bug, *Atractotomus mali* (Meyer)(Heteroptera: Miridae). Can. Entomol. 126, 445–446.

- Smith, R.F., Pierce Jr, H.D., Borden, J.H., 1991. Sex pheromone of the mullein bug, *Campylomma verbasici* (Meyer)(Heteroptera: Miridae). J. Chem. Ecol. 17, 1437–1447.
- Snodgrass, G.L., 1996. Insecticide Resistance in Field Populations of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in Cotton in the Mississippi Delta. J. Econ. Entomol. 89, 783–790. doi:10.1093/jee/89.4.783
- Snodgrass, G.L., Scott, W.P., 2000. Seasonal Changes in Pyrethroid Resistance in Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) Populations During a Three-Year Period in the Delta Area of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. J. Econ. Entomol. 93, 441–446. doi:10.1603/0022-0493-93.2.441
- Snodgrass, G.L., Scott, W.P., Smith, J.W., 1984a. An annotated list of the host plants of *Lygus lineolaris* (Hemiptera : Miridae) in the Arkansas, Louisiana, and Mississippi delta [Tarnished plant bug]. J. Ga. Entomol. Soc. USA.
- Snodgrass, G.L., Scott, W.P., Smith, J.W., 1984b. Host Plants and Seasonal Distribution of the Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) in the Delta of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. Environ. Entomol. 13, 110–116. doi:10.1093/ee/13.1.110
- Sounigo, O., Coulibaly, N., Brun, L., N’Goran, J., Cilas, C., Eskes, A.B., 2003. Evaluation of resistance of *Theobroma cacao* L. to mirids in Côte d’Ivoire: results of comparative progeny trials. Crop Prot. 22, 615–621. doi:10.1016/S0261-2194(02)00244-2
- Spurgeon, D.W., Brent, C.S., 2010. Morphological characters of diapause in *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae). J. Entomol. Sci. 45, 303.
- Sreekumar, K.M., Vasavan, N., Madhu, S., Sijila, J., Sreedharan, M.P., Sreelekha, S., Cheriyan, T., 2011. Managing tea mosquito bug (*Helopeltis antonii* Sign.) in cashew by augmenting red ants *Oecophylla smaragdina* (F.). J. Plant. Crops India.
- Srikumar, K.K., Bhat, P.S., Raviprasad, T.N., Vanitha, K., 2014. Biology, behaviour and functional response of *Cydnocoris gilvus* Brum. (Heteroptera: Reduviidae: Harpactorinae) a predator of Tea Mosquito Bug (*Helopeltis antonii* Sign.) on cashew in India. J. Threat. Taxa 6, 5864–5870. doi:10.11609/JoTT.o3815.5864-70
- Srikumar, K.K., Bhat, P.S., Raviprasad, T.N., Vanitha, K., Krishna Kumar, N.K., Rebijith, K.B., Asokan, R., 2015. Distribution of Major Sucking Pest, *Helopeltis* spp. (Hemiptera: Miridae) of Cashew in India. Proc. Zool. Soc. 68, 30–35. doi:10.1007/s12595-013-0091-2
- Stern, V., Bosch, R. van den, Leigh, T., others, 1964. Strip cutting alfalfa for lygus bug control. Calif. Agric. 18, 4–6.

- Stern, V.M., Sevacherian, V., Way, M., 1969. *Lygus* bug control in cotton through alfalfa interplanting. Calif. Agric. 8–10.
- Stonedahl, G.M., 1995. Taxonomy of African *Eurystylus* (Heteroptera: Miridae), with a review of their status as pests of sorghum. Bull. Entomol. Res. 85, 135–156. doi:10.1017/S0007485300052093
- Stonedahl, G.M., 1991. The Oriental species of *Helopeltis* (Heteroptera: Miridae): a review of economic literature and guide to identification. Bull. Entomol. Res. 81, 465–490. doi:10.1017/S0007485300032041
- Sundararaju, D., Babu, P.C., 1998. Life table studies of *Helopeltis antonii* Sign.(Heteroptera: Miridae) on neem, guava and cashew. J. Entomol. Res. 22, 241–244.
- Sundararaju, D., Bhat, P.S., Raviprasad, T.N., others, 2002. New refuge host plant for *Helopeltis* spp. Insect Environ. 8, 137–138.
- Sundararaju, D., Sundara Babu, P.C., 1999. *Helopeltis* spp. (Heteroptera: Miridae) and their management in plantation and horticultural crops of India. J. Plant. Crops 27, 155–174.
- Tanaka, S., 1987. Changing responses to temperature and moisture of diapausing and developing eggs of *Allonemobius fasciatus* (Orthoptera: Gryllidae). J. Insect Physiol. 33, 635–641.
- Tanaka, S., Delinger, D.L., Wolda, H., 1987. Daylength and humidity as environmental cues for diapause termination in a tropical beetle. Physiol. Entomol. 12, 213–224.
- Tauber, C.A., Tauber, M.J., 1981. Insect Seasonal Cycles: Genetics and Evolution. Annu. Rev. Ecol. Syst. 12, 281–308. doi:10.1146/annurev.es.12.110181.001433
- Tauber, M.J., Tauber, C.A., Masaki, S., 1986. Seasonal Adaptations of Insects. Oxford University Press, New York, NY.
- Taylor, T.H.C., 1947. Some East African species of *Lygus*, with notes on their host plants. Bull. Entomol. Res. 38, 233–258.
- Thistlewood, H.M.A., Borden, J.H., Smith, R.F., Pierce, H.D., McMullen, R.D., 1989. Evidence for a sex pheromone in the mullein bug, *Campylomma verbasci* (Meyer)(Heteroptera: Miridae). Can. Entomol. 121, 737–744.
- Torres, J.B., Boyd, D.W., 2009. Zoophytophagy in predatory Hemiptera. Braz. Arch. Biol. Technol. 52, 1199–1208.
- Trotta, V., Duran Prieto, J., Fanti, P., Battaglia, D., 2015. Prey abundance and intraguild predation between *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae). Eur. J. Entomol. doi:10.14411/eje.2015.080

- Tscharntke, T., Steffan-Dewenter, I., Kruess, A., Thies, C., 2002. Characteristics of insect populations on habitat fragments: A mini review. *Ecol. Res.* 17, 229–239. doi:10.1046/j.1440-1703.2002.00482.x
- Turka, I., 1978. *Lygus rugulipennis* Popp.(Heteroptera, Miridae), vector of potato viruses. *Tr. Latv* 65–73.
- Urbaneja, A., González-Cabrera, J., Arnó, J., Gabarra, R., 2012. Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. *Pest Manag. Sci.* 68, 1215–1222. doi:10.1002/ps.3344
- Urbaneja, A., Montón, H., Mollá, O., 2009. Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. *J. Appl. Entomol.* 133, 292–296. doi:10.1111/j.1439-0418.2008.01319.x
- Van Den Berg, M.A., De Villiers, E.A., Joubert, P.H., 1999. Identification manual for avocado pests, Dynamic Ad, Nelspruit.
- Vanitha, K., Srikumar, K.K., Bhat, P.S., 2014. Record of weed fauna of cashew plantations as hosts of tea mosquito bug. *The Ecoscan* 8, 221–224.
- Vankosky, M.A., VanLaerhoven, S.L., 2015. Plant and prey quality interact to influence the foraging behaviour of an omnivorous insect, *Dicyphus hesperus*. *Anim. Behav.* 108, 109–116. doi:10.1016/j.anbehav.2015.07.019
- Vidya, M., Reddy, M.N.N., Rajanna, K.M., Babu, V., 2015. Screening of cashew germplasm accessions/entries to tea mosquito bug, *Helopeltis antonii* sign. *Acta Hort.* 449–453. doi:10.17660/ActaHortic.2015.1080.60
- Vigneau, J.-P., 2001. La zone "supratropicale" dans le monde et en France. Réflexion sur la classification des climats//The “supratropical” zone in the world and in France, an essay on climatic classifications. *Ann. Géographie* 110, 227–242. doi:10.3406/geo.2001.2033
- Vincenot, D., Normand, F., 2009. Guide de production intégrée de mangues à La Réunion, Cirad – Chambre d’Agriculture de La Réunion. ed. Vincenot D.; Normand, F., Saint-Pierre, Reunion.
- Visalakshy, P.N.G., Mani, M., 2011. Record of *Beauveria Bassiana* on Tea Mosquito Bug, *Helopeltis Antonii* Signoret in Guava Ecosystem. *J. Biol. Control* 25, 150–151.
- Way, M.J., Khoo, K.C., 1991. Colony dispersion and nesting habits of the ants, *Dolichoderus thoracicus* and *Oecophylla smaragdina* (Hymenoptera: Formicidae), in relation to their success as biological control agents on cocoa. *Bull. Entomol. Res.* 81, 341–350.

- Wessel, M., Quist-Wessel, P.M.F., n.d. Cocoa production in West Africa, a review and analysis of recent developments. NJAS - Wagening. J. Life Sci. doi:10.1016/j.njas.2015.09.001
- Wheeler, A.G.J., 2001. Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Wheeler, A.G.J., 2000. Plant Bugs (Miridae) as Plant Pests, in: Heteroptera of Economic Importance. CRC Press, pp. 36–83.
- Wheeler, A.G.J., Henry, T.J., 2008. Plant bugs (Hemiptera: Miridae), in: Encyclopedia of Entomology. Springer, pp. 2909–2914.
- Wheeler, A.G., Krimmel, B.A., 2015. Mirid (Hemiptera: Heteroptera) Specialists of Sticky Plants: Adaptations, Interactions, and Ecological Implications. Annu. Rev. Entomol. 60, 393–414. doi:10.1146/annurev-ento-010814-020932
- Whitman, D.W., Blum, M.S., Slansky, F.J., 1994. Carnivory in phytophagous insects, in: Functional Dynamics of Phytophagous Insects. Ananthakrishnan T. N., New Delhi, pp. 161–205.
- Wijetunge, P.M.A.P.K., Ranaweera, B., 2015. Rearing of red weaver ant (*Oecophylla smaragdina* f.) for the management of *Helopeltis antonii* sign. (Hemiptera: Miridae) in cashew (*Anacardium occidentale* L.). Acta Hortic. 401–408. doi:10.17660/ActaHortic.2015.1080.53
- Williams, G., 1953. Field Observations on the Cacao Mirids, *Sahlbergella singularis* Hagl. and *Distantiella theobroma* (Dist.), in the Gold Coast. Part I. Mirid damage. Bull. Entomol. Res. 44, 101–119.
- Womack, C.L., Schuster, M.F., 1987. Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in the Northern Blackland Prairies of Texas. Environ. Entomol. 16, 1266–1272. doi:10.1093/ee/16.6.1266
- Wood, G. a. r., Lass, R. a., 2001. Frontmatter, in: Cocoa. Blackwell Science Ltd, pp. i–xix.
- Yasuda, T., Higuchi, H., Yasuda, T., Higuchi, H., 2012. Sex Pheromones of *Stenotus rubrovittatus* and *Trigonotylus caelestialium*, Two Mirid Bugs Causing Pecky Rice, and Their Application to Insect Monitoring in Japan, Sex Pheromones of *Stenotus rubrovittatus* and *Trigonotylus caelestialium*, Two Mirid Bugs Causing Pecky Rice, and Their Application to Insect Monitoring in Japan. Psyche J. Entomol. Psyche J. Entomol. 2012, 2012, e435640. doi:10.1155/2012/435640, 10.1155/2012/435640
- Yasuda, T., Oku, K., Higuchi, H., Shigehisa, S., Okutani-Akamatsu, Y., Watanabe, T., Takahashi, A., Sugeno, W., Yamashita, M., Fukumoto, T., others, 2009. Optimization

- of blends of synthetic sex pheromone components for attraction of the sorghum plant bug *Stenotus rubrovittatus* (Matsumura)(Heteroptera: Miridae). Appl. Entomol. Zool. 44, 611–619.
- Yasuda, T., Oku, K., Higuchi, H., Suzuki, T., Kashin, J., Kichishima, T., Watanabe, T., Takeda, A., Yasuda, M., Tabuchi, K., Takahashi, A., Yamashita, M., Fukumoto, T., Mochizuki, F., 2010. A multi-species pheromone lure: A blend of synthetic sex pheromone components for two mirid species, *Stenotus rubrovittatus* (Matsumura) and *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae). Appl. Entomol. Zool. 45, 593–599. doi:10.1303/aez.2010.593
- Youdeowei, A., 1973. The Life Cycles of the Cocoa mirids *Sahlbergella singularis* Hagl. and *Distantiella theobroma* Dist. in Nigeria. J. Nat. Hist. 7, 217–223. doi:10.1080/00222937300770171
- Youdeowei, A., 1965. A note on the spatial distribution of the cocoa mirid *Sahlbergella singularis* Hagl. in a cocoa farm in Western Nigeria. Niger. Agric. J. 66–67.
- Youdeowei, A., 1964. Progress in the laboratory rearing of cocoa mirids in Nigeria, in: Proceedings of the Conference on Mirids and Other Pests Cocoa. Presented at the Conference on Mirids and other Pests Cocoa, Ibadan, Nigeria, pp. 98–100.
- Young, G.R., Zhang, L., 2001. IPM of Melon Thrips, Thrips palmi Karny (Thysanoptera: Thripidae) on Eggplant in the Top End of the Northern Territory., in: Proceedings of the Sixth Workshop on Tropical Agricultural Entomology: Darwin 11-15 May 1998. Presented at the sixth workshop on tropical agricultural entomology, Northern Territory of Australia, Darwin, N.T.
- Young, O.P., 1986. Host Plants of the Tarnished Plant Bug, *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). Ann. Entomol. Soc. Am. 79, 747–762.
- Zeng, F., Cohen, A.C., 2001. Induction of elastase in a zoophytophagous heteropteran, *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae). Ann. Entomol. Soc. Am. 94, 146–151.
- Zeng, F., Cohen, A.C., 2000. Partial characterization of α -amylase in the salivary glands of *Lygus hesperus* and *L. lineolaris*. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 126, 9–16. doi:10.1016/S0305-0491(00)00176-0
- Zhang, P., Zhao, Y., Zhang, X., Song, Y., Zhang, Z., Liu, F., 2015. Field resistance monitoring of *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae) in Shandong, China to seven commonly used insecticides. Crop Prot. 76, 127–133. doi:10.1016/j.cropro.2015.03.013

- Zhang, Q.-H., Aldrich, J.R., 2008. Sex pheromone of the plant bug, *Phytocoris calli* Knight. J. Chem. Ecol. 34, 719–724.
- Zhang, Q.-H., Aldrich, J.R., 2003a. Male-produced anti-sex pheromone in a plant bug. Naturwissenschaften 90, 505–508.
- Zhang, Q.-H., Aldrich, J.R., 2003b. Pheromones of milkweed bugs (Heteroptera: Lygaeidae) attract wayward plant bugs: *Phytocoris* mirid sex pheromone. J. Chem. Ecol. 29, 1835–1851.
- Zhang, Z., Luo, J., Lu, C., Zhao, B., Meng, J., Chen, L., Lei, C., 2011. Evidence of female-produced sex pheromone of *Adelphocoris suturalis* (Hemiptera: Miridae): effect of age and time of day. J. Econ. Entomol. 104, 1189–1194.
- Zhang, Z., Zhang, X., Liu, F., Mu, W., 2015. Insecticide susceptibility of the green plant bug, *Apolygus lucorum* (Homoptera: Miridae) and two predatory arthropods. J. Plant Prot. Res. 0. doi:10.1515/jppr-2015-0048

Chapitre II

Les mirides des vergers de manguiers à La Réunion

Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons souligné les principales caractéristiques bioécologiques des mirides des cultures fruitières tropicales et présenté quelques cas d'étude. Nous nous intéressons maintenant à la miridofaune des agroécosystèmes à base de manguiers à La Réunion. Aucune étude sur la diversité des mirides n'y a jusqu'à lors été réalisée. De plus, aucune information n'est disponible sur la place d'*O. palus* dans cette communauté de mirides. On veut chercher à savoir si *O. palus* est la seule espèce en nombre important sur les inflorescences de manguiers et, donc, potentiellement celle qui inflige les dégâts. Comme plusieurs exemples traités dans le chapitre 1 le montrent, les cultures fruitières tropicales (cacaoyer, noix de cajou, avocatier) peuvent être attaquées simultanément par plusieurs espèces de mirides. Par ailleurs, la reconnaissance des individus d'*O. palus* dans les vergers est actuellement réalisée subjectivement, sans outil d'identification et de critères de reconnaissance clairement définis. Le seul support disponible est une photographie, dont le morphotype présenté correspond au morphotype le moins représentatif de l'espèce (Annexe 1). De plus, le flou prévaut sur la nomination officielle de l'espèce avec trois noms (*Lygus palus*, *Taylorilygus palus*, *Orthops palus*) qui sont utilisés sur les différents documents officiels.

Le premier objectif de ce chapitre est d'inventorier et de caractériser les communautés de mirides présentes dans les vergers de manguiers et de vérifier qu'*O. palus* est la seule espèce étant une peste pour les inflorescences de manguiers durant la floraison. Le second objectif est de développer des outils d'identification et de reconnaissance des espèces de mirides, sous la forme d'une clé d'identification, d'outils moléculaires d'identification spécifique et de fiches de terrain permettant la reconnaissance des espèces recensées.

Ce chapitre répond à ces différents objectifs au travers d'un article, soumis à la revue "Fruits". Cet article est précédé de son résumé en français. Il est complété de planches photographiques illustrant les différents stades de développement d'*O. palus*, du stade œuf au stade adulte et des deux morphotypes d'adultes d'*O. palus*, témoignant du large spectre de couleur que peut avoir l'adulte de l'espèce. Ce chapitre renvoie également à des fiches descriptives de l'ensemble des espèces de mirides retrouvées dans les vergers. Ces fiches placées en annexe 3 de la thèse, fournissent des informations sur la synonymie, la distribution géographique, la

biologie et la diagnose des espèces.

Résumé des études du chapitre

La mangue est la deuxième production fruitière tropicale mondiale. A La Réunion, d'importantes pertes de récolte sont provoquées par une punaise *Orthops palus* (Heteroptera, Miridae), qui pique et dessèche les inflorescences des manguiers. Néanmoins, peu de connaissances sont disponibles sur ce ravageur et sur les autres espèces de mirides présentes dans les vergers de manguiers. La présente étude vise à caractériser la communauté des mirides présents dans les vergers de manguiers à La Réunion et de proposer des outils d'aide à l'identification taxonomique et à la reconnaissance sur le terrain de ces espèces. Les collectes ont été effectuées dans 14 vergers de manguiers de 2012 à 2014. Les observations ont été réalisées dans les arbres et dans la couverture végétale du sol. Les mirides collectés ont été identifiés au niveau de l'espèce. Sur les 1695 individus collectés et identifiés, treize espèces de mirides ont été recensées. *O. palus* est l'espèce la plus importante sur les arbres (plus de 80 % des individus observés) et la seule espèce de miride présente en nombre significatif sur les inflorescences de manguiers. De plus, trois outils d'identification et de reconnaissance des mirides des vergers de manguiers ont été mis au point : une clé taxonomique pour l'identification jusqu'à l'espèce ; les séquences du Cytochrome c oxydase subunit I (COI) pour 12 des 13 espèces inventoriées, publiées sur GenBank et disponibles pour une identification moléculaire ; une fiche de reconnaissance des mirides sur le terrain pour les agriculteurs. Ces résultats et ces outils permettent de mieux connaître la diversité de mirides présente dans les vergers de manguiers et d'envisager la mise au point de méthodes de gestion agroécologique des populations d'*O. palus*.

Mots-clés : punaise, *Orthops palus*, clé d'identification, barcode.

Article: Characterization of Mirid assemblages (Heteroptera, Miridae) in mango orchards in Reunion Island and implementation of identification and recognition tools

M. Atiama¹, T. Ramage², M. Jacquot¹, J. A. M. Sadeyen¹, H. Delatte¹, J.-P. Deguine¹

¹ CIRAD, UMR PVBMT, 7 chemin de l'IRAT 97410 Saint-Pierre, Reunion Island, France

² 9 quartier de la Glacière, F - 29900 Concarneau

Corresponding author: morguen.atiama@cirad.fr

Abstract

Introduction. Mango is the second most important tropical fruit produced worldwide. In Reunion Island, serious losses are the result of damage caused by *Orthops palus* (Heteroptera, Miridae). This bug sucks the sap of mango inflorescences, causing them to dry out. However, little is known about this pest and the other mirid species present in mango orchards. The aim of the present study was to characterize the mirid species assemblages in mango orchards in Reunion Island and to design tools for the taxonomic identification and for the recognition of these species in the field.

Materials and methods. Surveys were conducted in 14 mango orchards between 2012 and 2014. Observations were made in the canopy and in ground cover. The individuals collected were identified to species level.

Results and Discussion. Thirteen species were inventoried of the 1695 individuals collected and identified. *O. palus* was the dominant species on mango (more than 80% of the individuals collected) and the only species present in significant numbers on inflorescences. In addition, three mirid identification and recognition tools were implemented: a taxonomic identification key to species level; Cytochrome c oxidase subunit I (COI) sequences of 12 of 13 catalogued species, published on GenBank and available for molecular identification of species; a flyer for mirid recognition in the field designed for farmers. These results and tools help assess mirid diversity in mango orchards and to develop agroecological management of *O. palus* populations.

Key words: bug, *Orthops palus*, identification key, barcode.

Introduction

Mirids (Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha), or plant bugs, are one of the most diverse and species-rich families of insects, with approximately 11,000 species described to date [1]. They are present in all major biogeographic regions of the world [2-3] and abundant in a variety of habitats [4]. The majority of species in this family are phytophagous and many of them have an economic impact on crops; some species are zoophagous and zoophytophagous [5]. These characteristics are found in the tropics [6].

Mango is the second most important tropical fruit produced worldwide [7] and it is the fifth most important in Reunion Island (385 cultivated hectares divided between about 150 farms) [8]. Mango inflorescences suffer severe damage each year and used to be attributed to a plant bug originally identified as *Taylorilygus palus* (Taylor, 1947) [8, 9]. Now considered as the most important mango pest in Reunion Island, this species has been recognized as *Orthops palus* (Taylor, 1947) [10]. This pest is controlled by chemical treatments which give unsatisfactory results. [11] Apart from this pest, there are other species of mirids in mango orchards in Reunion. Mirid species have been poorly studied on Reunion Island and in the Malagasy region. Indeed, only 17 species have been reported in Reunion's agroecosystem [12-13] and the Miridae assemblage in mango orchards has never been studied in this island or indeed the world. Therefore, this study will aid in characterizing the mirid fauna in Reunion Island.

The identification of Mirid species is not easy [14]. Colors are not good criteria to differentiate species and genitalia dissection, which is complex, is often needed [14-15]. Identification tools use identification keys [16] or molecular techniques involving Cytochrome c oxidase subunit I (COI) sequences for adults and nymphs and aid in the identification of cryptic species [17-19]. These techniques are not available for mirid species in Reunion. In the fields, farmers and agricultural technicians often have difficulty recognizing mirids species and have asked for tools to help them.

This study aims to improve knowledge on mango orchard mirids, with the aim of developing agroecological management of their populations. The first aim of the study was to inventory and characterize mirid assemblages in mango orchards (in the mango canopy itself, on the

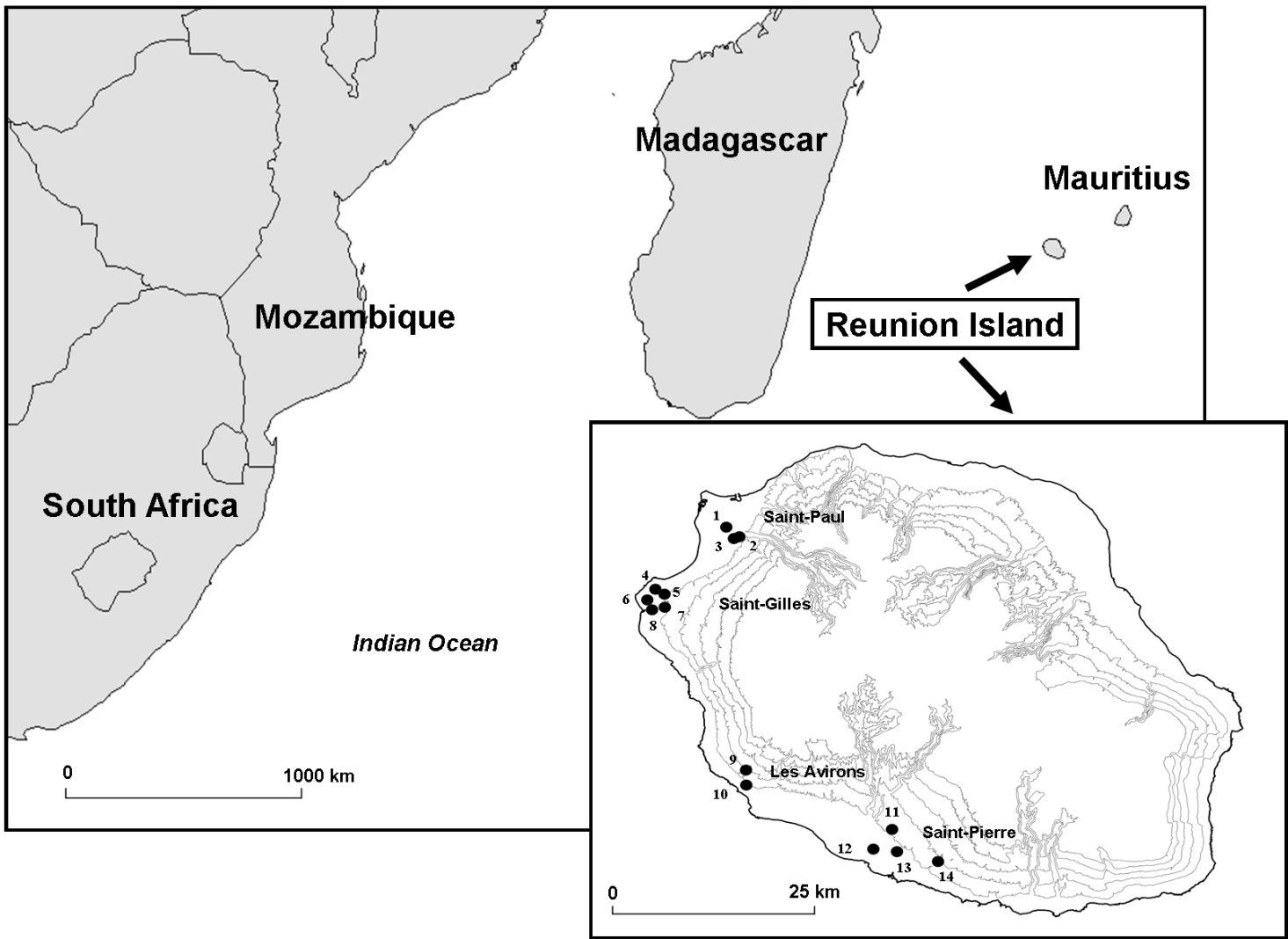


Figure II-1. Maps of south-west Indian Ocean and Reunion Island (with the location of the 14 mango orchards surveyed in 2012, 2013 and 2014)
Each number corresponds to a mango orchard

Table II-1. Geographical characterization of the 14 mango orchards
Orchard number, locality and GPS coordinates in degree, minute, second.

Orchard	Locality	Longitude (E)	Latitude (N)
1	Saint-Paul	55°18'36"375	-20°58'02"815
2	Saint-Paul	55°19'13"128	-20°58'28"441
3	Saint-Paul	55°19'25"532	-20°58'29"458
4	Saint-Gilles	55°14'05"043	-21°01'47"555
5	Saint-Gilles	55°14'15"000	-21°02'00"591
6	Saint-Gilles	55°13'36"937	-21°02'25"297
7	Saint-Gilles	55°14'24"282	-21°02'16"205
8	Saint-Gilles	55°13'57"385	-21°02'41"121
9	Les Aviron	55°19'51"592	-21°14'21"951
10	Etang-Salé	55°19'54"463	-21°14'57"777
11	Saint-Pierre	55°29'09"743	-21°18'19"181
12	Saint-Pierre	55°27'39"446	-21°19'14"609
13	Saint-Pierre	55°29'17"950	-21°19'21"582
14	Saint-Pierre	55°31'44"451	-21°20'00"985

ground and in border vegetation) and to ascertain if *O. palus* is the only mirid species to be a pest of mango inflorescences during the flowering season. The second aim of the study was to develop and implement tools to identify and recognize mirid species: a taxonomic identification key to species level; reference COI sequences; mirid recognition flyers to be

Materials and Methods

Ecological context and sampling sites

Reunion Island (55°39'E, 21°00'S) is a sub-tropical island situated in the western Indian Ocean (Figure II-1). This island of 2512 km² is located 1200 km off the African continent and 800 km from Madagascar. Generally, the island has a tropical climate with a hot and humid season from November to April (sea level temperature: 22.6 to 30°C) and a cooler, drier season from June to September (17.7 to 25.8°C) [20]. However, Reunion Island is characterized by a diversity of microclimates due to a wide range of elevations with high mountains (highest point: 3070 m), and a windward east coast and leeward west coast. These winds induce contrasted rainfalls between the east (annual rainfall: 2,000 to 5,000 mm) and west coasts (500 to 1,500 mm) [20]. Today, commercial mango orchards cover more than 300 ha and have expanded rapidly over the last thirty years (50 ha in 1970). West and south-west coasts are the most suitable area for mango cultivation [21]. The two mango varieties commercially produced (José and Cogshall) flower from July to October.

Surveys were conducted in 14 insecticide-free mango orchards in the production areas (Figure II-1 and Table II-1). These orchards are part of the project Biophyto network, a project began in 2011 which aims to produce insecticide-free mango in Reunion Island [11].

Mirid collection

In order to inventory the mirid species present during the year in the orchards, sampling was carried out every two weeks for a period of three years in each of the 14 orchards. Three different habitats were sampled: inflorescences in the canopy; the ground cover and shrubs bordering the orchard. Sampling was done via suction (modified leaf blower, STIHL BG56, Stihl, Dieburg, Germany). Three suctions of 30 seconds duration each were conducted on

each sample at 3 habitats.

In order to characterize the relative importance of the mirid species in the trees during the flowering season, collections were carried out once during the flowering season in August. They were conducted in the 14 orchards over a period of three years. Collections were performed between 7am and noon in order to collect as many mirids as possible. Sampling was carried out using the same technique as for inventories. We sucked mirids from mango inflorescences at the four cardinal points of each tree during a total of 10 seconds. The number of trees sampled per orchard was a function of the size of the plot (four to ten trees per orchard). Two criteria for analyzing the relative importance of species were considered: (i) the proportion of each species collected (ii) the proportion of each species per tree infested by at least one individual. This last criterion is to consider the fact that the distribution of mirid populations in orchards is not always homogeneous and may be aggregative, as seen in other species of mirid [22].

Identification and recognition tools

To create an identification key for mirid species present in orchards, taxonomic criteria are morphological (body shape, presence and shape of the spots, color of antenna segments) which are widely used for the identification of mirids in general. The anatomical terminology used is that of Schuh & Slater [15]. One or two individuals of each species were deposited in the CIRAD-UMR PVBMT collection (CIRAD Saint-Pierre, Reunion). Each individual was identified by a collection number. Voucher specimens, conserved in ethanol, are available upon request. Photographs were realized with a macroscope Nikon AZ100. Drawings (Figure II-4a, b, c and d) have been made by one of the authors (TR) with the software Inkscape 0.91 based on pictures.

To obtain the COI sequences, genomic DNA was extracted with the DNeasy Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) from one to three individuals per species. Miridae were not crushed before extraction to enable intact vouchers to be kept for collection and morphological examination. The COI sequence of each species was obtained with a COI primer cocktail for Hemiptera containing: LCO1490puc -t1 (TGTAACGACGGCCAGTTTCAACWAATCATAAAGATATTGG) [23],

LCO1490Hem1-t1(TGTAAAACGACGGCCAGT)TTTCAACTAAYCATAARGATATYGG)
 [24], HCO2198puc-t1
 (CAGGAAACAGCTATGACTAAACTTCWGGRTGWCCAAARAATCA) [23],
 HCO2198Hem1-t1
 (CAGGAAACAGCTATGACTAAACYTCDDGGATGBCCAAARAATCA) [24] and
 HCO2198Hem2-t1
 (CAGGAAACAGCTATGACTAAACYTCAGGATGACCAAAAAAYCA) [24] (the PCR
 program used was 3 min at 95°C, 5x [30 sec at 95°C, 40 sec at 45°C, 1 min at 72°C], 35x [30
 sec at 95°C, 40 sec at 51°C, 1 min at 72°C], 10 min at 72°C). Cycle sequencing reactions
 were performed using the primers M13F (TGTAACGACGGCCAGT) and M13R
 (CAGGAAACAG -CTATGAC) in separate reactions. These primers were used to amplify a
 658 bp. region of cytochrome c oxidase subunit I. *O. palus* individuals were also tested with
 other primers (LepF2_t1 and LepR1) [19] (PCR program: 5 min/94°C; 35 cycles [30 s/94°C,
 1 min 30s/45°C, 1 min/72°C]; 7 min/72°C) which amplify the same sequence. PCR products
 were sent to Macrogen© for standard sequencing. COI sequences were analyzed by MEGA 6
 [25] and the resulting sequences were deposited in GenBank. The BLAST tool from NCBI
 was used to look for similarities between our sequence dataset and sequences already
 published in GenBank.

An illustrated recognition guide with pictures of adults of each species was created using the
 inventoried species and taxonomic key. It contains comments and aims to be a familiarization
 and field reconnaissance tool for farmers.

Results

Thirteen mirid species were inventoried in mango orchards

During the year, a total of 598 mirids bugs were collected. Thirteen species (*Corizidolon
 notaticolle* Reuter, 1907, *Trigonotylus tenuis* Reuter, 1893, *Nesidiocoris volucer* Kirkaldy,
 1902, *Probosciodoris* sp, *Deraeocoris indianus* Carvalho, 1957, *Deraeocoris* cf *howanus*
 Poppius, 1912, *Campylomma leucochila* (Reuter, 1905), *Campylomma* spA, *Campylomma* cf
plantarum Lindberg, 1958, *Taylorilygus* cf *entadae* (Taylor, 1947), *O. palus*, *Taylorilygus*
apicalis (Fieber, 1861), *Campylomma* cf *angustior* Poppius, 1914) were inventoried and eight

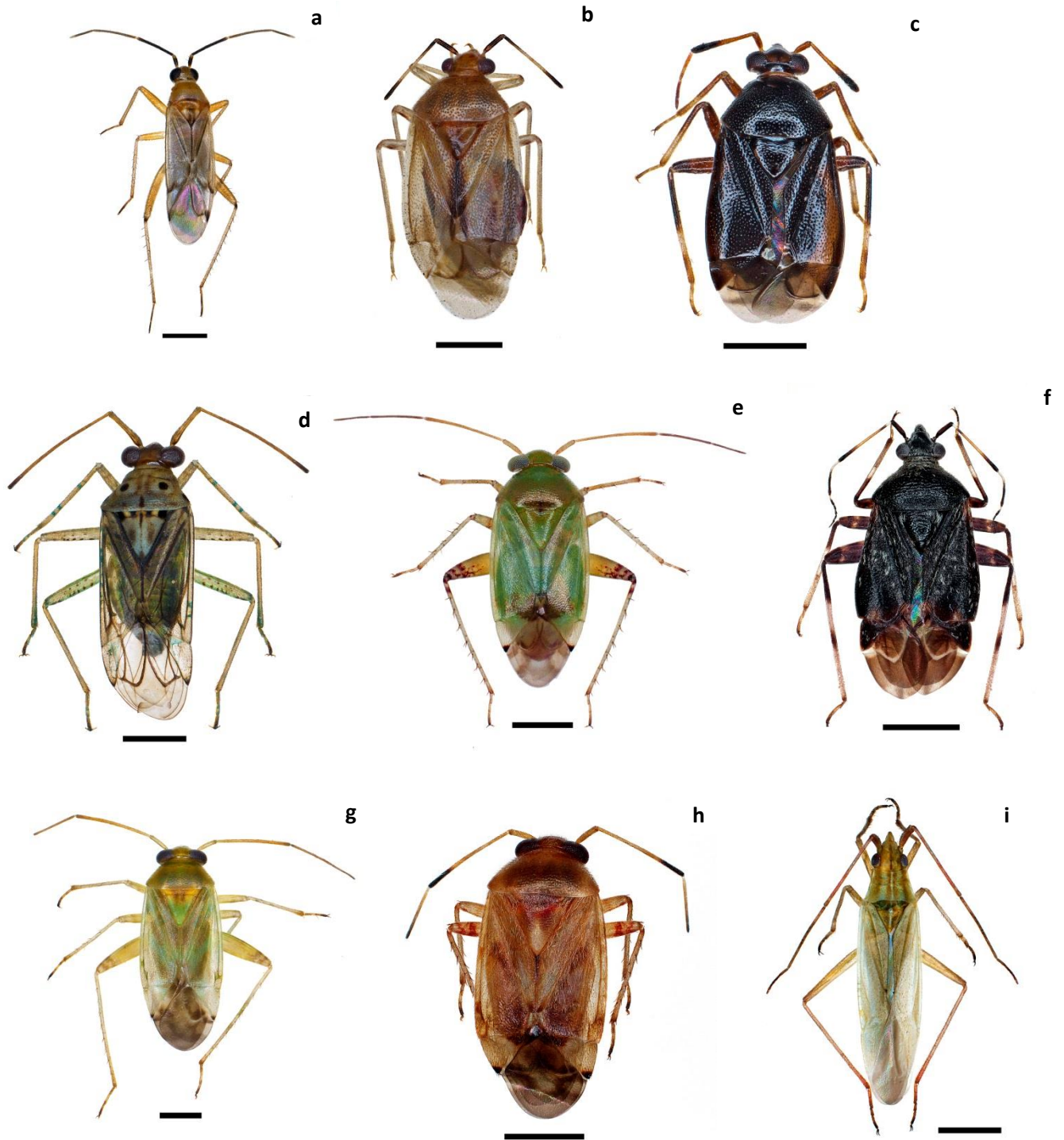


Figure II-2 (part1). Miridae species collected in mango orchards in Reunion Island (2012-2014), dorsal view.

Scale bar = 1 mm. (a) *Nesidiocoris volucer*; (b) *Deraeocoris indianus*; (c) *Deraeocoris* cf *howanus*; (d) *Corizidolon notaticolle*; (e) *Orthops palus*; (f) *Proboscicodocoris* sp; (g) *Taylorilygus apicalis*; (h) *Taylorilygus* cf *entadae*; (i) *Trigonotylus tenuis*; (j) *Campylomma* cf *angustior*; (k) *Campylomma* cf *plantarum* ♂ (l) *Campylomma* cf *plantarum* ♀ (m) *Campylomma leucochila*; (n) *Campylomma* spA.

genera were identified. The Figure II-2 presents photographs of each species. Four species belonged to the genus *Campylomma* Reuter, 1878, two species to the genus *Deraeocoris* Kirschbaum, 1856 and two species to the genus *Taylorilygus* Leston, 1952. In addition, one species belonged to each of the following genera: *Corizidolon* Reuter, 1907, *Nesidiocoris* Kirkaldy, 1902, *Orthops* Fieber, 1858, *Probosciodocoris* Reuter, 1882 and *Trigonotylus* Fieber, 1858.

Orthops palus was the only significant mirid on mango inflorescence during the flowering season

A total of 350 trees were sampled and 1097 mirids were collected. Seven of the 13 species were observed on mango inflorescences during the flowering season (Table II-2). Only three species were present in significant numbers, the other four representing only 1.6% of the collected mirids. *O. palus* represents by far the most abundant species with more than 83% of total mirids collected and 70% of mirids captured on infested trees. Two species of the genus *Campylomma* were present but at much lower numbers: *C. leucochila* (0.17 ± 0.03) and *C. cf plantarum* (0.08 ± 0.02).

A taxonomic key was implemented for the identification of mirids

A key was developed to aid in the taxonomic identification of 13 species of mirid found in mango orchards in Reunion (Figure II-3 and II-4). Identification to species level was not possible for all the morphospecies in the Malagasy region due to a lack of knowledge of Miridae taxonomy.

COI sequences were published for molecular identification of mirids

COI sequences of mirid species (396 bp to 692 bp) were obtained for 12 of the 13 described species (with the exception of *Taylorilygus cf. entadae* (failed sequencing)) (Table II-3). These are the first published COI sequences for 11 of the 13 species described (with the exceptions of *Taylorilygus cf. entadae* (failed sequencing) and *Taylorilygus apicalis* (COI sequence already available)).

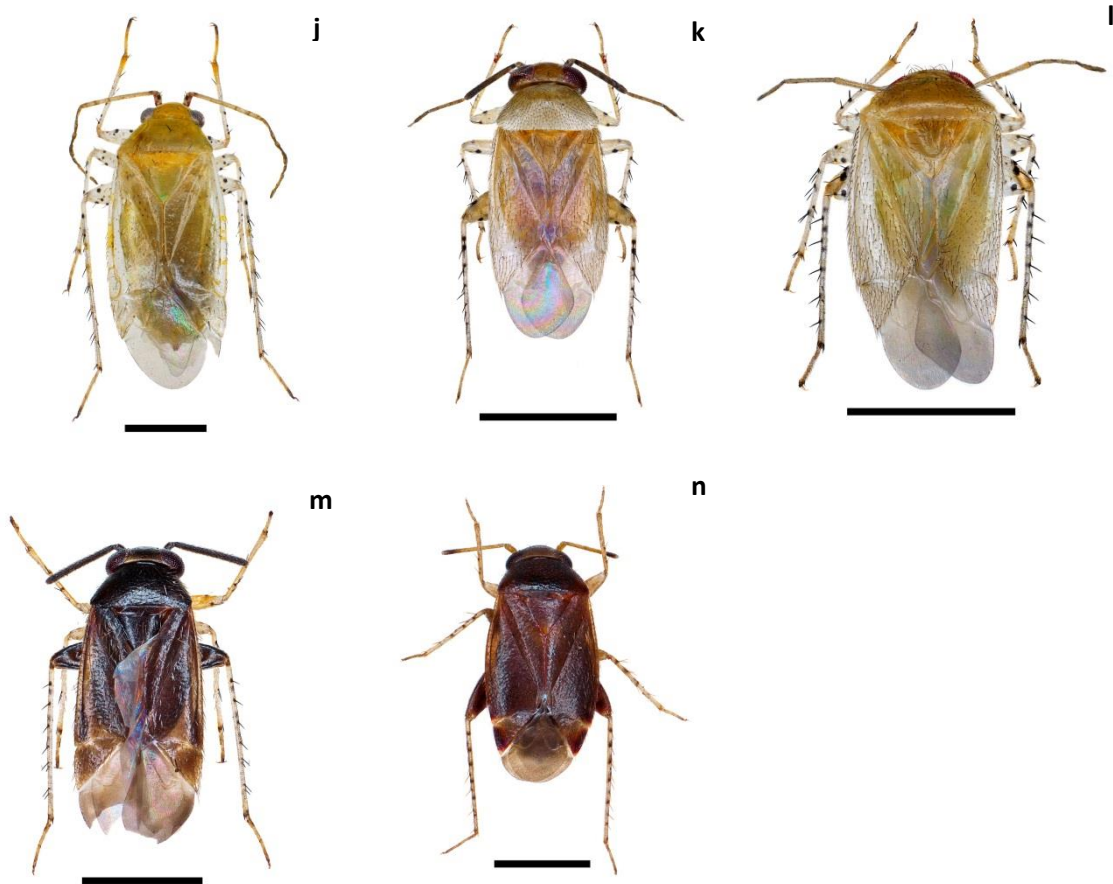


Figure II-2 (part2). Miridae species collected in mango orchards in Reunion Island (2012-2014), dorsal view.

Scale bar = 1 mm. (a) *Nesidiocoris volucer*; (b) *Deraeocoris indianus*; (c) *Deraeocoris* cf *howanus*; (d) *Corizidolon notaticolle*; (e) *Orthops palus*; (f) *Probosciodocoris* sp; (g) *Taylorilygus apicalis*; (h) *Taylorilygus* cf *entadae*; (i) *Trigonotylus tenuis*; (j) *Campylomma* cf *angustior*; (k) *Campylomma* cf *plantarum* ♂ (l) *Campylomma* cf *plantarum* ♀ (m) *Campylomma leucochila*; (n) *Campylomma* spA.

Table II-2. Miridae species composition in the mango canopy in Reunion Island

Sampling was carried out with a suction device on mango inflorescences over a period of 3 years (2012-2014). 350 trees were sampled. SD = Standard deviation.

Species	Number of collected specimens per species	Proportion (in %) of species in the samples	Average proportion (in %) of species on trees infested by at least one mirid (SD)
<i>Campylomma leucochila</i>	103	9.39	17.26 (2.63)
<i>Campylomma</i> cf <i>plantarum</i>	63	5.74	7.56 (1.82)
<i>Corizidolon notaticolle</i>	8	0.73	2.95 (1.27)
<i>Deraeocoris</i> cf <i>howanus</i>	5	0.46	1.25 (0.6)
<i>Orthops palus</i>	913	83.23	69.88 (3.30)
<i>Taylorilygus apicalis</i>	1	0.09	0.23 (0.23)
<i>Trigonotylus tenuis</i>	4	0.36	0.28 (0.21)

All the sequences were submitted to GenBank (Accession number KT201348 to KT201382) and they now can be used for molecular identification (Table II-3). Sequences of *O. palus* obtained with LepF2t1 and LepR1 were also submitted to GenBank (Accession number KT201370 to KT201380).

A field card was proposed to farmers for mirid recognition

A mirid field recognition card has been designed for farmers (Figure II-5). The card is A4-sized, double-sided, laminated and illustrated with pictures of the relative size of each species. The front of the card shows three species commonly encountered on mango inflorescences: *O. palus*, *C. leucochila* and *C. plantarum*. The back the 13 mirid species found in orchards accompanied with comments on their densities and locations where information is available.

Discussion

Numerous studies have focused on larger groups of insects like Hemiptera [26] or inventory insects and spiders on mango [27]. Some studies focused on mirids in different crops (fruit crops in Canada [28]) and some studies on mango and mirids did not inventory all mirids present in mango orchards. For example, one study focused on mirids associated with a Lepidoptera, *Orthaga exvinacea*, which is a pest of mango [29]. Another study focused on a mirid species that is a pest of mango [30]. But, to our knowledge, our study is the first to tackle the whole mirid complex in mango orchards.

Thirteen species of mirid have now been inventoried in mango orchards in Reunion Island. Four appear to be new to Reunion Island (*Campylomma* cf. *plantarum*, *Campylomma* cf. *angustior*, *Deraeocoris* cf. *howanus*, *Taylorilygus* cf. *entadae*). Several species were encountered frequently, while others were found only once or twice, with only a few specimens each time. Several mirid species known to inhabit the island were not encountered during this survey: *Creontiades pallidus* (Rambur, 1839), *Deraeocoris ostentans* (Stål, 1855), *Eurystylus bellevoyei* (Reuter, 1879), *Moissonia nigropunctata* (Poppius, 1910), *Nabidomiris clypealis* Poppius, 1914, *Nesidiocoris tenuis* (Reuter, 1895), *Probosciodocoris punctaticollis* Reuter, 1905 [13].

1	Species with two round black spots and a distinct color pattern on the pronotum (Fig. 2.e).....	<i>Corizidolon notaticolle</i>
	Species without the two spots and peculiar color pattern on the pronotum.....	2
2	Species with a longitudinal white line on the pronotum and scutellum (Fig. 2.i).....	<i>Trigonotylus tenuis</i>
	Species without the white line on the pronotum and scutellum.....	3
3	Species with a blackish spot at the apex of both cuneus and cuneal fracture (Fig. 3.a and Fig. 4.e).....	<i>Nesidiocoris volucer</i>
	Species with a blackish spot only at the apex of the cuneus or without a blackish spot in either place (Fig. 2.d; 2.f, 4.a).....	4
4	Species with whitish hairs scattered in patches (Fig. 2.f).....	<i>Probosciodoris</i> sp
	Species with different pilosity.....	5
5	Yellow species with a longitudinal broad black line along the claval commissure (Fig. 2.b).....	<i>Deraeocoris indianus</i>
	Species without a black line along the claval commissure.....	6
6	Brownish yellow to black species, glabrous, in which the apex of the 2 nd antennal segment is broadened (Fig. 2.c).....	<i>Deraeocoris</i> cf <i>howanus</i>
	Species without the apex of the 2 nd antennal segment broadened.....	7
7	Dark colored species, reddish black or black (Fig. 2.m; 2.n).....	8
	Light colored species, yellow, brownish yellow or light green (Fig. 2.e; 2.g; 2.i; 2.k; 2.l).....	9
8	Black species; whole cuneus dark; the first and second antennal segments black (Fig. 2.m).....	<i>Campylomma leucochila</i>
	Reddish black species; a dark cuneus with a whitish base; first and second antennal segments dark yellow and the last third of the 2 nd segment black (Fig. 2.n).....	<i>Campylomma</i> spA
9	Second antennal segment black (Fig. 2.k).....	<i>Campylomma</i> cf <i>plantarum</i> (♂)
	Second antennal segment mostly yellow (Fig. 2.e; 2.g, 2.i, 2.j).....	10
10	Apical fourth of the 2 nd antennal segment black (Fig. 2.h).....	<i>Taylorilygus</i> cf <i>entadae</i>
	Apical fourth of the 2 nd antennal segment yellow.....	11
11	Femur III with red to brown stripes on the apical third (Fig. 2.e; 2.g).....	12
	Femur III with black spots at least on the apical third (Fig. 4.c; 4.d).....	13
12	Species with at most a dark spot at the apex of the corium (Fig. 2.e).....	<i>Orthops palus</i>
	Species with dark spots on the clavus, the corium and the embolium (Fig. 2.g).....	<i>Taylorilygus apicalis</i>
13	Femur III swollen, three times longer than broad; characteristic pattern of black spots (Fig. 4.c).....	<i>Campylomma</i> cf <i>plantarum</i> (♀)
	Femur III thinner, more than four times longer than broad; characteristic pattern of black spots (Fig. 4.d).....	<i>Campylomma</i> cf <i>angustior</i>

Figure II-3. Taxonomic key of mirid species of mango orchards in Reunion Island

O. palus was by far the most common species on mango inflorescences during the flowering season (83% of the samples collected). It makes sense to hypothesize that *O. palus* is the only mirid pest of mango inflorescences of significant importance in Reunion. Two other species were found on mango inflorescences: *C. leucochila*, (9%) and *C. cf plantarum* (6%). *C. leucochila* is often described as a zoophagous mirid [31-32]. It cannot therefore be considered as a mango pest. However, even though its population levels remain low (less than 10% of collections), we cannot rule out the possibility that *C. cf plantarum* causes damage to mango inflorescences for two reasons: on one hand, this species morphologically resembles *O. palus* and thus may have been the subject of confusion in the past in Reunion; secondly, it is known to be phytophagous [33-34].

The effectiveness of the proposed taxonomic key was tested in laboratory conditions by 15 technicians, engineers and researchers with different levels of entomological knowledge who used the key to identify and level rank 10 specimens. The difficulties encountered and the questionnaire filled in by each participant helped us improve and validate the key.

COI sequences are very useful in the case of doubt on any identification, for nymph identification (easier to sample) and for customs to prevent pest species from entering a country. All sequences were submitted to GenBank (Accession number KT201348 to KT201382) and they now can be used for molecular identification (Table II-2).

Muller *et al* [35] produced a species recognition guide for the *Lygus* genus in crops in California. An illustrated field card was also produced to help farmers recognize adults of the different species. Hundreds of copies were printed and distributed to producers and technicians in the mango industry by the Reunion Chamber of Agriculture (organization in charge of training and transfer to farmers). The field cards were particularly popular with users and were also sent to producers of other crops (e.g. citrus fruits, in which some mirids species can be observed). This card help producers understand the biotic community in orchards and better take into consideration certain beneficial

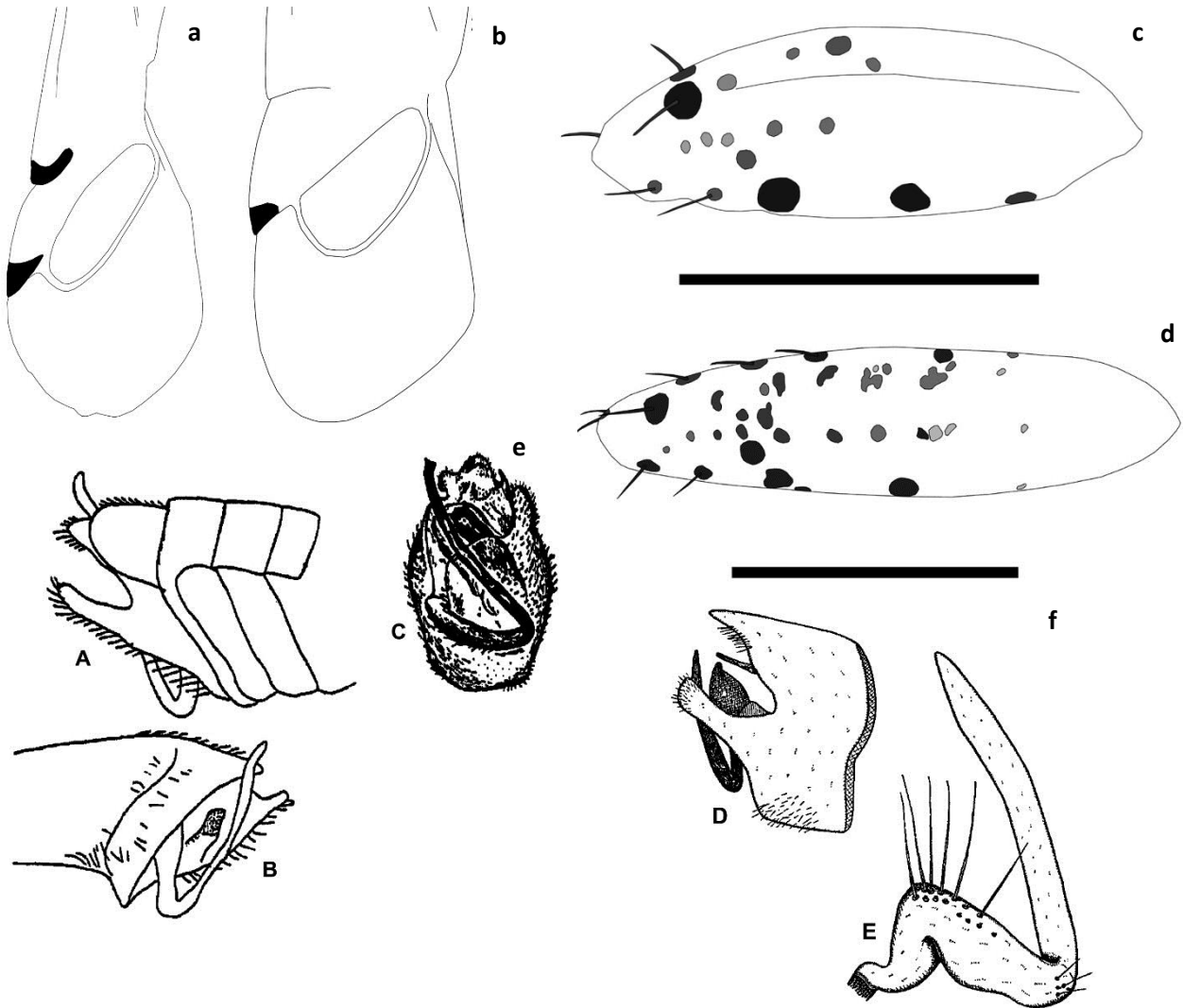


Figure II-4. Anatomical characteristics used in the taxonomic identification key of mango orchard mirid species.

Scale bar = 0.5 mm. Apex of left hemelytra: *Nesidiocoris volucer* (a); *Orthops palus* (b). Right femur III: *Campylomma* cf *plantarum* (c); *Campylomma* cf *angustior* (d). *Nesidiocoris volucer* apex of the abdomen (♂) (e) seen from the right (A), from the left (B) and from below (C) (after Lindberg, 1958). *Nesidiocoris tenuis* ♂ pygophore (f) (D) and left clasper (E) (after Carvalho, 1956). The drawings (a), (b), (c) and (d) are original production from Ramage Thibault.

species. Given the results of this study, on an applied level, protection efforts should concentrate on *O. palus*, the species primarily present on the mango inflorescences during flowering. Today there are intervention thresholds used when to decide whether or not to use chemical control, but this solution is not entirely satisfactory and should no longer be prioritized in agricultural policies. An agroecological approach is now a priority for the management of mango orchards and several strategies are currently under discussion. Three strategies have great potential: (i) use of trap plants in the framework of the push-pull technique [36-38], (ii) the use of entomopathogenic fungi such as *Beauveria bassiana* [39-40], (iii) the use of bio-insecticide spot treatments on trees whose population of *O. palus* is above a defined threshold.

Further studies will focus on determining the status of mirids present in mango orchards: diet (phytophagy, zoophagy, zoophytophagy) and functional role (pest, beneficial). In addition, it is essential in the future to study the status of *C. cf plantarum* in Reunion mango orchards, especially as a number of *Campylomma* species are pests of fruit crops in some countries, like *C. verbasci* for apple [41-42] and more recently *C. austrina* in mango orchards in the Northern Territories in Australia [30]. Moreover, interspecific interactions (competition, predation) between the most abundant species on flowers (*O. palus* and *C. leucochila*) should be studied. Finally, understanding the movements of the different species between the canopy and ground vegetation represents a further area of study.

Conclusion

Thirteen morphospecies of Mirids were inventoried in mango orchards in Reunion Island and two tools (a taxonomic key and COI sequences) are now available for species identification. Furthermore, the field card we developed will help farmers to better recognize mirids directly in the field. In the Mirid assemblages in mango orchards, *O. palus* was by far the most common species and is the species responsible for most damage to mango inflorescences. Protection will need to focus on *O. palus* and include both biological and crop management.

Acknowledgements

The authors are extremely grateful to E. Lucas for his help in collecting samples, A. Matocq

Table II-3. Collection and Genbank information for Miridae species collected in mango orchards in Reunion Island

Collection numbers of the specimen sequenced (reference collection of CIRAD-UMR PVBMT), GenBank accession numbers of partial COI with first primers and second primers (in bold, first published sequences for the species). (–) means that no sequence was obtained. * DNA extracted from samples from mango orchards was of poor quality, samples of *Nesidiocoris volucer* coming from tomato (*Solanum lycopersicum* L.) were used.

Species	Location of sample	Collection number	Sequence size (bp)	Genbank accession number
<i>Deraeocoris</i> cf <i>howanus</i> (Poppius, 1912)	Etang-Salé; Maniron/Lambert	MAT100001_0101	623	KT201348
	Saint-Gilles	MAT100002_0101	683	KT201349
<i>Campylomma leucochila</i> (Reuter, 1905)	Saint-Paul	MAT100004_0101	615	KT201382
	Saint-Paul; Trois roches	MAT100005_0101	611	KT201381
<i>Deraeocoris indianus</i> (Carvalho, 1957)	Le Tampon	MAT100014_0101	683	KT201351
<i>Probosciodocoris</i> sp (Reuter, 1882)	Saint-Pierre	MAT100016_0101	609	KT201352
<i>Taylorilygus apicalis</i> (Fieber, 1861)	Saint-Pierre; Ligne Paradis	MAT100018_0101	669	KT201353
	Saint-Pierre; Ligne Paradis	MAT100020_0101	615	KT201354
<i>Campylomma</i> cf <i>angustior</i> (Poppius, 1914)	Saint-Gilles	MAT100022_0101	550	KT201355
	Saint-Pierre	MAT100023_0101	545	KT201356
<i>Campylomma</i> cf <i>plantarum</i> (Lindberg, 1958)	Saint-Gilles	MAT100024_0101	476	KT201357
<i>Campylomma</i> spA	Etang-Salé	MAT100028_0101	558	KT201358
<i>Trigonotylus tenuis</i> (Reuter, 1893)	Saint-Gilles	MAT100034_0101	692	KT201359
	Saint-Gilles	MAT100036_0101	627	KT201361
<i>Nesidiocoris volucer</i> (Kirkaldy, 1902)	Saint-Pierre; Ligne Paradis *	MAT100035_0101	612	KT201360
	Saint-Pierre; Ligne Paradis *	MAT100012_0101	663	KT201350
<i>Orthops palus</i> (Taylor, 1947)	Avirons; Ravine Ruisseau	MAT100039_0101	549	KT201362
	Saint-Philippe	MAT100040_0101	539	KT201363
	Saint-Philippe	MAT100040_0102	560	KT201364
	Saint-Gilles	MAT100041_0101	497	KT201365
	Saint-Gilles	MAT100041_0102	559	KT201366
<i>Corizidolon notaticolle</i> (Reuter, 1907)	Saint-Pierre	MAT100042_0101	478	KT201367
	Saint-Pierre	MAT100042_0102	405	KT201368
	Saint-Pierre	MAT100042_0103	396	KT201369
<i>Taylorilygus cf entadae</i> (Taylor, 1947)	Saint-Pierre	MAT100033_0101	-	-

for his help in taxonomic determination and the access to the MNHN collections, M. Tenailleau for the first discriminations of morphospecies. We also thank L. Boissinot, M. Charlety, B. Derepas, S. Gasnier, A. Hafsi, V. Legros, L. Marquereau, L. Muller, S. Nibouche, T. Nurbel, N. Odaglia, J. Rochat, M. Techer who helped to valid the identification key. We would like to thank the farmers for allowing us access to their fields to collect samples. We are grateful for the technical help provided by M.L. Moutoussamy, C. Ajaguin Soleyen, C. Simiand, A. Franck, B. Beziat and T. Schmitt. This work was funded by the Regional Council of Reunion, the General Council of Reunion, the French Government, the European Union (ERDF, EAFRD), the Trust Account for Agricultural and Rural Development (CASDAR) and the CIRAD.

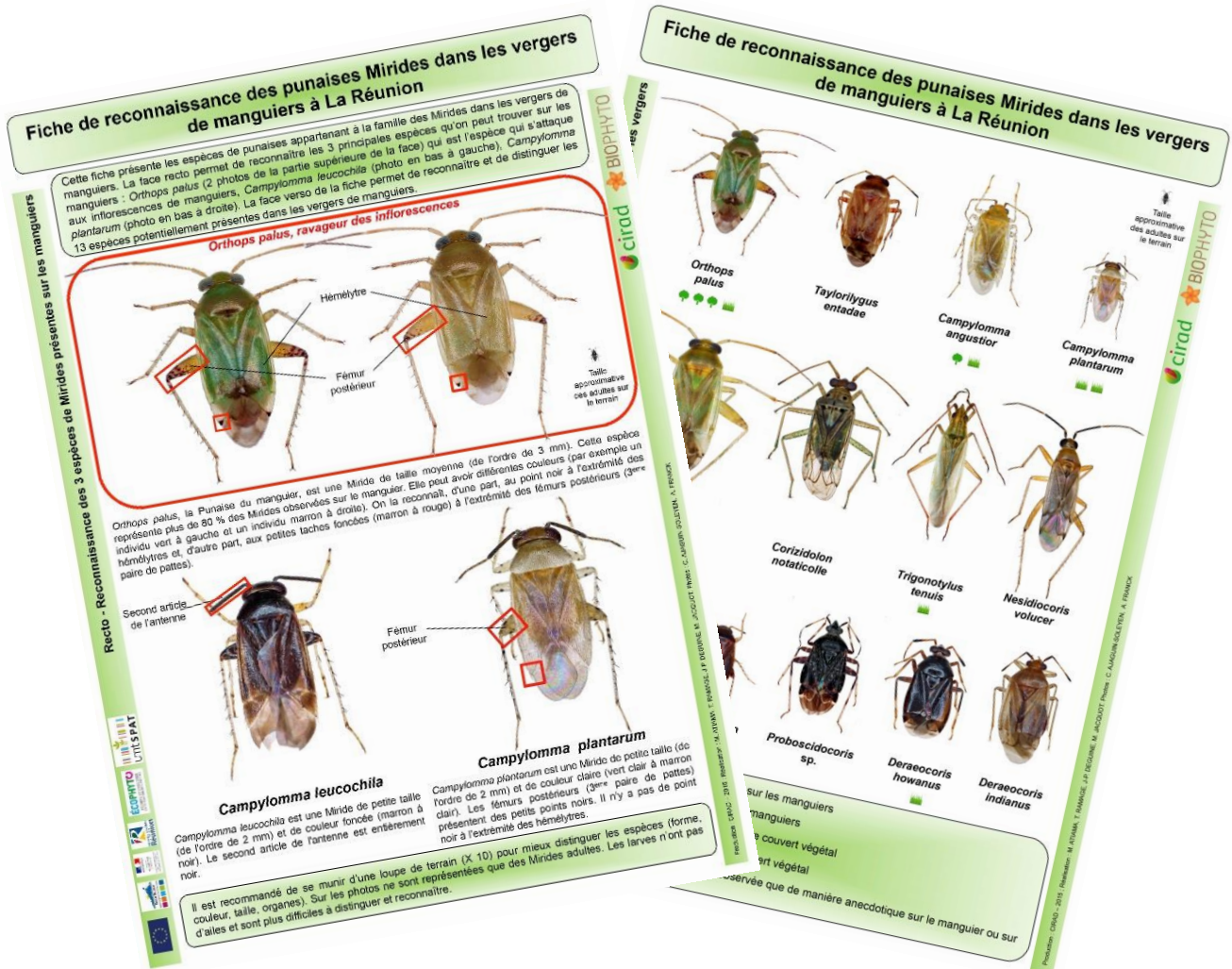


Figure II-5. Field card of mirid recognition in mango orchards in Reunion Island

The front of the card shows three species commonly encountered on mango inflorescences: *O. palus*, *C. leucochila* and *C. plantarum*. The back shows the 13 mirid species found in orchards accompanied with comments on their densities and locations where information is available.

References

- [1] Cassis G., Schuh R.T., Systematics, Biodiversity, Biogeography, and Host Associations of the Miridae (Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha), *Annual Review of Entomology* 57 (2012) 377-404.
- [2] Schuh R.T., *Plant Bugs of the World (Insecta: Heteroptera: Miridae), Systematic Catalog, Distributions, Host List, and Bibliography*, New York, New York Entomological Society, 1995.
- [3] Schuh R.T., *On-line systematic catalog of plant bugs (Insecta: Heteroptera: Miridae)*. Available at <http://research.amnh.org/pbi/catalog/> (2008) [accessed 21 April 2015]
- [4] Ehanno B., Les hétéroptères mirides de France. Tome II-A : inventaire et synthèses écologiques. Inventaire Faune Flore 40, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France, 1958.
- [5] Sweetman H.L., The principles of biological control; interrelation of hosts and pests and utilization in regulation of animal and plant populations, The biological control of insects, W. C. Brown Co., Dubuque, Iowa, 1958.
- [6] Atiama M., Deguine J.P., Wheeler, A.G., Miridae of tropical fruit crops, Unpublished manuscript, 2016.
- [7] FAO STAT, 2016, FAO STAT Agriculture Data, 2016. Available at <http://faostat.fao.org/>.
- [8] Agreste DAAF, La production fruitière à La Réunion, Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Saint-Denis, La Réunion, 2014.
- [9] Taylor T.H.C., Some east African species of *Lygus*, with notes on their host plants, *Bulletin of Entomological Research* 38 (1947) 233-258.
- [10] Atiama M., Deguine J.-P., Delatte H. (2016) Isolation and Characterization of Eleven polymorphic Microsatellite Markers developed for the mango bug, *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae), *Journal of Insect Science* (2016) in press.
- [11] Deguine J.-P., Gloanec C., Schmitt T. (eds), Biodiversité et protection agroécologique des cultures. Actes du Séminaire Biophyto, Saint-Pierre, La Réunion, 21-24 octobre 2014, Saint-Denis : Chambre d'agriculture de La Réunion, 2015, ISBN: 978-2-87614-704-1.
- [12] Kirkaldy G.W., Memoir upon the Rhynchotal family Capsidae Auctt, *Transactions of the Entomological Society of London* 50(2) (1902) 243-272.
- [13] Vayssières J.-F., Delvare G., Maldès J.-M., Aberlenc H.-P., Inventaire Préliminaire des Arthropodes Ravageurs et Auxiliaires des Cultures Maraichères sur l'Ile de La Réunion, *Insect Science and its Application* 21(1) (2001) 1-22.

- [14] Wheeler A.G.J., Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists, Cornell University Press, Ithaca, New York, 2001.
- [15] Schuh R.T., Slater J.A., True Bugs of the World (Hemiptera: Heteroptera). Classification and Natural History, Cornell University Press, Ithaca, New York, 1995.
- [16] Eyles A.C., New genera and species of the *Lygus*-Complex (Hemiptera: Miridae) in the New Zealand subregion compared with subgenera (now genera) studied by Leston (1952) and *Niastama* Reuter, *New Zealand Journal of Zoology* 26 (1999) 303–354. doi: 10.1080/03014223.1999.9518198
- [17] Raupach M.J., Hendrich L., K  chler S.M., Deister F., Morini  re J., Gossner M.M., Building-Up of a DNA Barcode Library for True Bugs (Insecta: Hemiptera: Heteroptera) of Germany Reveals Taxonomic Uncertainties and Surprises, *PLoS ONE* 9 (2014) e106940. doi:10.1371/journal.pone.0106940
- [18] Jung S., Duwal R.K., Lee S., COI barcoding of true bugs (Insecta, Heteroptera): DNA BARCODING, *Molecular Ecology Resources* 11 (2011) 266–270. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02945.x
- [19] Park D.-S., Foottit R., Maw E., Hebert P.D.N., Barcoding Bugs: DNA-Based Identification of the True Bugs (Insecta: Hemiptera: Heteroptera), *PLoS ONE* 6 (2011) e18749. doi:10.1371/journal.pone.0018749
- [20] Raunet M., Le milieu physique et les sols de l’  le de la Réunion, conséquences pour la mise en valeur agricole. CIRAD, Saint-Denis, Ile de la Réunion, France, 1991.
- [21] Vincenot D., Normand F., Guide de production intégrée de mangues    La Réunion, CIRAD – Chambre d’Agriculture de La Réunion, Saint-Pierre, Reunion, 2009.
- [22] Babin R., Ten Hoopen G.M., Cilas C., Enjalric F., Yede, Gendre P., Lumaret J.-P., Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests, *Agricultural and Forest Entomology* 12 (2010) 69–79. doi: 10.1111/j.1461-9563.2009.00453.x
- [23] Cruaud A., Jabbour-Zahab R., Genson G., Cruaud C., Couloux A., Kjellberg F., Van Noort S., Rasplus J.-Y., Laying the foundations for a new classification of Agaonidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), a multilocus phylogenetic approach, *Cladistics* 26 (2010) 359–387. doi:10.1111/j.1096-0031.2009.00291.x
- [24] Germain J.-F., Chatot C., Meusnier I., Artige E., Rasplus J.-Y., Cruaud A., Molecular identification of *Epitrix* potato flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in Europe and North America, *Bulletin of Entomological Research* 103 (2013) 354–362.
- [25] Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., MEGA6: Molecular

Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0, *Molecular Biology and Evolution* 30 (2013) 2725–2729.

[28] Kelton L.A. Plant bugs on fruit crops in Canada: Heteroptera: Miridae. Research Branch, Agriculture Canada, Ottawa, Canada, 1982.

[26] Tara J.S., Gupta M., Shrikhandia P., Bala A., Zaffar N., Sharma S., Record of Some Hemipteran Insect Pests of Mango (*Mangifera indica*) From Jammu Region of Jammu and Kashmir State, *International Journal of Interdisciplinary and Multidisciplinary Studies* 1 (2014) 19–29.

[27] Chin D., Brown H., Neal M., Thistleton B.M., Mango Flower Insects and their Effect on Fruit

Quality in the Northern Territory, Plant Industries, Northern Territories, *Technical Annual Report 2006-07* (2007) 25-33.

[29] Rafeeq A.P.M.M., Ranjini K.R., Field Survey of Associated Mirid Fauna of the Mango Leaf Webber Pest, *Orthaga exvinacea* Hampson (Lepidoptera: Pyralidae), *Journal of Experimental Zoology India* 16 (2013) 705–708.

[30] Peng R.K., Christian K., The dimpling bug, *Campylomma austrina* Malipatil (Hemiptera: Miridae): the damage and its relationship with ants in mango orchards in the Northern Territory of Australia, *International Journal of Pest Management* 54 (2008) 173–179.

[31] Cadou J., Les Miridae du cotonnier en Afrique et à Madagascar, Série les déprédateurs du cotonnier en Afrique tropicale et dans le reste du monde N°8, Paris, France, CIRAD, 1994.

[32] Malipatil M.B., Revision of Australian *Campylomma* Reuter (Hemiptera: Miridae: Phylinae), *Journal of the Australian Entomological Society* 31 (1992) 357-368.

[33] Lindberg H., Hemiptera Insularum Caboverdensium. Systematik, Ökologie und Verbreitung der Heteropteren und Cicadinen der kapverdischen Inseln, *Societatis Scientiarum Fennica, Commentationes Biologicae* 19(1) (1958) 1-246.

[34] Odhiambo T. R., Notes on the East African Miridae (Hemiptera).--XII: New species of the genera *Campylomma* Reuter and *Sthenarus* Fieber, *Annals and Magazine of Natural History* (13)2 (1960) 421-438.

[35] Mueller S.C., Summers C.G., Goodell P.B., A field key to the most common *Lygus* species found in agronomic crops of the central San Joaquin Valley of California, *University of California Agriculture and Natural Resources Publications* 8104 (2003) 1–12.

[36] Bensen T.A., Temple S.R., Trap cropping, planting date, and cowpea variety as potential elements of an integrated pest management strategy for *Lygus hesperus* in blackeyed cowpea, *Crop Protection* 27 (2008) 1343–1353.

- [37] Swezey S.L., Nieto D.J., Bryer J.A., Control of Western Tarnished Plant Bug *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) in California Organic Strawberries Using Alfalfa Trap Crops and Tractor-Mounted Vacuums, *Environmental Entomology* 36 (2007) 1457–1465.
- [38] Swezey S.L., Nieto D.J., Hagler J.R., Pickett C.H., Bryer J.A., Machtley, S.A., Dispersion, Distribution, and Movement of *Lygus* spp. (Hemiptera: Miridae) in Trap-Cropped Organic Strawberries, *Environmental Entomology* 42 (2013) 770–778.
- [39] McGuire M.R., Leland J.E., Dara S., Park Y.-H., Ulloa M., Effect of different isolates of *Beauveria bassiana* on field populations of *Lygus hesperus*, *Biological Control* 38 (2006) 390–396.
- [40] Portilla M., Snodgrass G., Luttrell R., Jaronski S., A novel bioassay to evaluate the potential of *Beauveria bassiana* strain NI8 and the insect growth regulator novaluron against *Lygus lineolaris* on a non-autoclaved solid artificial diet, *Journal of Insect Science* 14 (2014) 115.
- [41] Reding M.E., Beers E.H., Brunner J.F., Dunley J.E., Influence of Timing and Prey Availability on Fruit Damage to Apple by *Campylomma verbasci* (Hemiptera: Miridae), *Journal of Economic Entomology* 94(1) (2001) 33-38.
- [42] Kain D.P., Agnello A.M., Relationship Between Plant Phenology and *Campylomma verbasci* (Hemiptera: Miridae) Damage to Apple Fruit, *Environmental Entomology* 42(2) (2013) 307-313.

Planches photographiques

Planche

Chapitre III

Bioécologie d'*Orthops palus*

Introduction

Nous avons montré dans le chapitre précédent qu'*Orthops palus* était le miride le plus présent dans les vergers de manguiers lors de la floraison et que cette espèce était à l'origine de la majorité des dégâts observés. En effet, les deux autres punaises présentes en nombre significatif (*Campylomma leucochila* et *C. cf plantarum*) sont soit zoophage pour la première, soit phytophage pour la seconde mais n'ayant jamais été recensée sur une espèce de la famille du manguier (Anacardiaceae). Ainsi, le deuxième objectif de la thèse est l'acquisition de connaissances bioécologiques sur *O. palus*, de manière à envisager des méthodes de gestion agroécologique de ses populations. La connaissance du cycle biologique et de la gamme de plantes hôtes d'un insecte est indispensable pour comprendre sa dynamique spatio-temporelle. Nous avons vu, en balayant la bibliographie de l'espèce dans l'introduction générale, qu'*O. palus* était signalée sur cinq espèces végétales en Ouganda et sur seulement deux espèces (manguier et letchi) à La Réunion. De plus, nous avons noté que l'insecte était principalement présent sur les fleurs des plantes hôtes qu'il attaque. Partant de ces connaissances et dans le contexte réunionnais où le manguier et le letchi ne fleurissent, chaque année, que de juin à octobre, des questions se posent sur la dynamique de la Punaise du manguier durant les sept autres mois de l'année. La punaise pourrait-elle se nourrir et se reproduire sur d'autres plantes et ainsi se maintenir toute l'année témoignant d'une plus grande gamme d'hôte, ou bien entrer dans une "dormance", de type diapause, connue chez les mirides (Wheeler 2001), lui permettant d'émerger lors de la floraison du manguier et du letchi ?

Les objectifs de ce chapitre sont donc d'étudier le cycle biologique d'*O. palus* et de déterminer les plantes sur lesquelles l'espèce est retrouvée à La Réunion. Ces espèces végétales peuvent être des plantes hôtes, si on se base sur la définition adoptée tout au long de ce manuscrit, ou des plantes de nutrition servant uniquement à l'alimentation des adultes. L'étude du cycle biologique nécessitant la mise en place d'un élevage, des réponses sur la capacité à élever *O. palus* sont également recherchées.

Le chapitre se compose d'un article soumis à la revue "Arthropod-Plant Interactions", précédé d'un résumé en français, et de trois planches photographiques en fin de chapitre. La première planche montre des œufs d'*O. palus* insérés dans les tissus végétaux de différentes plantes

Cette planche souligne la capacité d'*O. palus* à insérer ses œufs dans les ovaires des inflorescences comme dans les tiges. La deuxième planche montre différents stades de développement d'*O. palus in situ*, soulignant le fait qu'une grande majorité des stades de développement de la Punaise du manguier peut se retrouver simultanément sur un même arbre. La troisième planche présente les dégâts visibles sur les inflorescences de manguier (et dans une moindre mesure sur les jeunes pousses de manguier) lors de fortes attaques d'*O. palus*. Au travers des différentes photographies, il est souligné la difficulté de discerner les symptômes provoqués par deux bioagresseurs (*O. palus* et l'Oïdium), souvent présents en même temps.

Résumé des études du chapitre

La mangue est la deuxième production fruitière tropicale à l'échelle mondiale et constitue le troisième fruit le plus produit à La Réunion. Cette culture est fortement menacée par un ravageur, la punaise *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae). La gestion actuelle de ses populations dans les vergers, basée sur l'utilisation d'insecticides, a atteint ses limites et s'avère peu efficace. Les politiques nationales visent ainsi à réduire l'usage des pesticides de synthèse et à privilégier des méthodes agroécologiques de gestion des populations d'*O. palus*. Cette démarche nécessite des connaissances biologiques et écologiques qui sont aujourd'hui indisponibles, cette punaise n'étant signalée comme ravageur du manguier qu'à La Réunion. L'objectif de la présente étude est d'acquérir des connaissances sur la bioécologie d'*O. palus* : caractérisation du cycle biologique et inventaire des plantes sur lesquelles *O. palus* est recensée. En premier lieu, une technique d'élevage sur gousses de haricot vert (*Phaseolus vulgaris* L.) est mise au point et a permis l'obtention de 3 générations de punaises. Des données biologiques ont pu être obtenues : le développement larvaire d'*O. palus* dure 17.29 ± 3.75 jours à 25°C et sa durée n'est pas influencée par le substrat de nutrition (gousse de haricot ; inflorescences de manguier et de baie rose (*Schinus terebenthifolius* Raddi)). Par ailleurs, quatorze plantes hôtes d'*O. palus* ont été recensées à La Réunion, ce qui laisse entendre qu'*O. palus* pourrait passer l'année en changeant de plantes hôtes à mesure que celles-ci fleurissent. Ces résultats permettent d'envisager une gestion agroécologique des populations d'*O. palus*, notamment à travers l'utilisation de plantes pièges.

Mots clés : cycle biologique, plante hôte, élevage, diapause, dynamique des populations

Article: First results on bioecology of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae)

Morguen Atiama ^{1*}, Jean-Philippe Deguine ¹

¹ CIRAD, UMR PVBMT, 7 chemin de l'IRAT 97410 Saint-Pierre, Reunion Island, France

* corresponding author : morguen.atiama@cirad.fr; phone: +262262499231; fax: +262262499293

Abstract

Mango (*Mangifera indica* L.) is the second most important tropical fruit crop worldwide and the third largest in Reunion Island, where mango crops are under threat from the insect pest *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae). Current pest management techniques in orchards using insecticides have reached their limit and are no longer effective. French policies aim to reduce the use of synthetic pesticides and instead promote agroecological management of *O. palus*. This requires biological and ecological knowledge that is not currently available as this bug only has pest status in Reunion Island. The objective of this study was thus to acquire knowledge on the bioecology of *O. palus*, its biological cycle, and to catalogue the plant species on which *O. palus* is observed. To achieve the first objective, a rearing technique on green bean pods (*Phaseolus vulgaris* L.) was developed and three generations of bugs were obtained and studied. *O. palus* nymph development lasted 17.29 ± 3.75 days at 25°C and was not influenced by the nutritional substrate (green bean pods, mango or Brazilian pepper (*Schinus terebenthifolius* Raddi) inflorescences). Second, 14 hosts of *O. palus* were catalogued on Reunion Island, suggesting that *O. palus* changes hosts as they bloom. These results will help implement agroecological management of *O. palus* populations, particularly through the use of trap plants.

Keywords: biological cycle, host plant, rearing, diapause, population dynamics

Introduction

Mango (*Mangifera indica* L.) is the world's second most important tropical crop in terms of production and acreage used (Muchiri et al. 2012) with more than 26 million tons produced annually (FAOSTAT 2015). In Reunion Island, mango is the third largest crop in terms of production (Vincenot and Normand 2009). Many pests attack mango crops in the island: two species of midges (Diptera: Cecidomyiidae), scale insects (Hemiptera: Margarodidae / Pseudococcidae), thrips (Thysanoptera: Thripidae), three species of fruit flies (Diptera: Tephritidae) and a bug *Orthops palus* Taylor, 1947 (Heteroptera: Miridae) (Vincenot and Normand 2009; Amouroux and Normand 2013). The latter has been considered since the 2000s as one of the most severe mango pests in Reunion Island (Insa et al. 2002). Production losses result from damage caused by the nymphs and adults that bite and extract the cell content of mango inflorescences. This causes the flowers to dry up and flowers and ovaries drop off (Insa et al. 2002). The attacks are often quick hence the need for improved monitoring of levels of bug populations in mango plantations (Vincenot and Normand 2009). *O. palus* has been described in Uganda (Taylor 1947) and Reunion Island (Etienne and Roura 1974) but only has been given pest status in Reunion Island. Therefore, few biological and ecological data are available on this insect in the literature. The life cycle of the insect is unknown; litchi and mango (*Litchi chinensis* Sonnerat, 1782) are the only plants known to be *O. palus* hosts in Reunion Island. No rearing method currently exists; this would help to acquire biological data on this species, its life cycle and development periods. This knowledge, including the conditions of its development *in situ* (*O. palus* interactions with plants), are required to find a sustainable approach in pest population management (Deguine et al. 2009).

The literature offers some data on the biology and ecology of various species of mirid that can be used to gain knowledge about *O. palus*.

No rearing method exists for species of the genus *Orthops*, but many species of phytophagous mirid have been studied and rearing have been developed (Wheeler 2001). The genus *Lygus*, close to the genus *Orthops* (both belong to "*Lygus* complex" (Kelton 1955; Henry and Lattin 1987; Eyles 1999)), is an good biological model to aid in the development of an *O. palus* rearing system: several species have been reared for ten years (*Lygus rugulipennis* (Fisher

2012); *Lygus hesperus* (Chen and Parajulee 2010; Rojas 2010; Spurgeon 2012); *Lygus lineolaris* (Ridgway and Gyrisco 1960; Stevenson and Roberts 1973; Khattat 1977)). Mirids are known to change host and habitat to gain access to better food sources (Snodgrass et al. 1984; Womack and Schuster 1987; Esquivel and Mowery 2007) and many mirid species are known to move, from wild, uncultivated plants to crop plants and vice versa over the course of a year (Young 1986; Dong-Soon et al. 2002; Kumar et al. 2013; Pan et al. 2013; Parajulee and Shrestha 2014; Jackson et al. 2014). Wild plants are reservoirs that allow the insects to maintain their numbers before moving onto crops such as mango (Snodgrass et al. 1984; Schwartz and Foottit 1992; Snodgrass et al. 2000; Snodgrass et al. 2005; Snodgrass et al. 2006; Esquivel and Mowery 2007). In addition, the study of mirid host ranges provides pertinent information on ecology, agronomy, evolution and species conservation (Logarzo et al. 2005). For insects like these, looking for host plants is made easier through the use of suction devices (Henderson and Whitaker 1977; Macleod et al. 1994; Stewart and Wright 1995; Maia et al. 2011; Ireneo L. Lit et al. 2014). The use of such devices is considered to be more effective than a butterfly net for collecting invertebrates less than 5cm in size, especially Homoptera (Doxon et al. 2011) as well as mirid adults and nymphs (Buffington and Redak 1998). The effectiveness of suction devices is such that their use is even considered as a population management tool in certain situations (Pickel et al. 1994; Vincent and Chagnon 2000; Swezey et al. 2007).

The objective of this study is to acquire biological and ecological knowledge on *O. palus*. The specific objectives are (i) to design, develop and evaluate a rearing method, (ii) to study the life cycle of *O. palus*, and (iii) to catalogue the plants which are hosts to the bug.

Material and Methods

Rearing technology

Bugs collected for rearing were *O. palus* adults living on Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) inflorescences (March-April) and mango (July-September) collected with a D-Vac foliage hoover type SH 56 (Stihl, Dieburg, Germany). Aspiration took a maximum of one minute and at low intensity so as to minimize damage to the insects. Suction

took place early in the morning so as to collect the maximum number of individuals. After suction, the adults were transferred into 30x30cm fabric cages and returned to the laboratory.

Several rearing methods were tested from 2013 to 2015 in the CIRAD laboratory. First, tests were conducted on mango inflorescences, picked and placed in cages with adult bugs. Second, artificial nutrition and spawning conditions were tested, adapting those used for mirids of *Lygus* complex to the food preferences of *O. palus* (replacement of green bean pods by mango or Brazilian pepper inflorescences). Artificial nesting environments composed of agar compounds at different concentrations were also tested.

Third, the use of green beans (*Phaseolus vulgaris* L. Delinel variety) as nutrition and laying substrate was considered. The procedure developed was an adaptation of a commonly used technique for rearing species of the genus *Lygus* (Ridgway and Gyrisco 1960; Wilson 1973; Khattat 1977; Slaymaker and Tugwell 1982; Snodgrass and McWilliams 1992; Whitbey 1999; Armstrong 2009; Fisher 2012; Burla et al. 2014). Different densities of individuals and different rearing containers were tested. Green bean pods were grown in insect-proof greenhouses without use of pesticides (insecticide, fungicide, and bactericide) to avoid any risks for rearing insects. Green bean pods were harvested very young (up to 4-5 cm) to serve as a laying substrate and were harvested when more mature if used as nutritional substrate.

No consensus exists in the scientific community on the precise and valid conditions for an insect rearing method. Few data are available in the literature and the positions taken on the issue are based on personal experience. In our study, we consider that the rearing technique is validated if at least one generation is obtained in the laboratory (including mating and oviposition of the F1 generation). These are the conditions set by mirid specialists (Wheeler, personal communication; Ratnadass, personal communication).

Nymph development periods

O. palus development periods have been studied in the laboratory (temperature: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, humidity: $65\pm 10\%$; photoperiod L/D: 16/08h) on three substrates: green bean pod, mango inflorescence and Brazilian pepper inflorescence. The data acquired for mango and Brazilian pepper came from observations on nymphs collected in the field. Those acquired for green

beans came from observations on lab-reared nymphs which explains why data are available for L1 nymphs.

On green beans, the incubation period is defined as the period from adult contact with pods and the first L1 nymph. To obtain the result, green bean pods were placed in contact with adults collected in the field for 24 hours, in mating and laying tubes. The green beans were then placed in a Petri dish and observed daily under a binocular microscope to identify L1 eggs and nymphs.

Nymph development was monitored by observation and daily determination of the nymph development stage (Schwartz, 1992), individualized in a Petri dish with each respective nutritional substrate (green bean pods, mango inflorescences, Brazilian pepper inflorescences). In addition to visual determination, the passage from one stage to the next was validated after witnessing an exuvia. After each moult, exuvia was removed from the box. The nymphs were monitored until adulthood.

Statistical analyzes of nymph development were carried out using R software (version 3.2.0, R Development Core Team, 2015, Vienna, Austria). Initially, in order to evaluate the effects of the substrate and of the nymph stage (+ interactions) on their development duration, a GLM was built from all the data for the three substrates assuming a quasi-Poisson distribution, because the data were under-dispersed. Secondly, because the number of compared nymph stages was not the same for each of the substrates (5 stages for beans; 4 stages for pink pepper and mango); comparisons duration of larval stage duration were therefore done separately for each substrate, using a GLM (with a quasi-Poisson distribution, data being under-dispersed). ANOVA (Fisher's test) was performed to highlight each effect then a multiple comparison test (glht function package "multcomp" (Hothorn et al 2008) was performed when ANOVA was significant. For all tests, statistical significance was set at 1%.

***O. palus* host plants**

For insects, a host plant is a plant in which the insect is able to perform some or all of its life cycle (laying, hatching, nymph development, adult development)

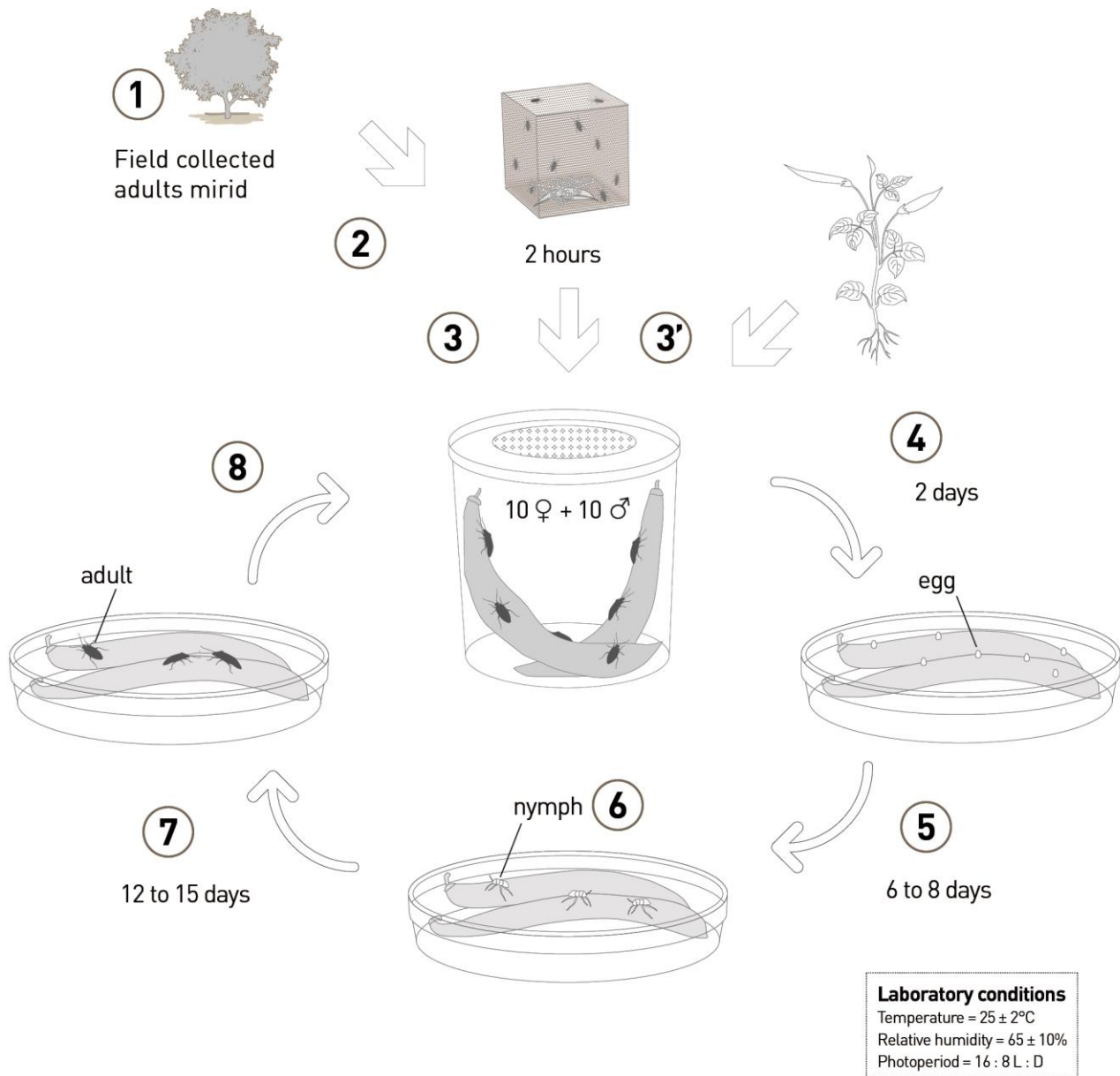


Figure III-1. Rearing procedure of *Orthops palus*

- 1: Rapid transfer into a 30 cm x 30 cm muslin cage
- 2: Adults being collected in the field by suction (duration: 1 min) with a D-Vac on mango (*Mangifera indica* L.) or Brazillian pepper (*Schinus terebenthifolius* Raddi)
- 3: After returning from the field and after 2 hours of acclimatation in the laboratory, 20 adult bugs (10 ♂ + 10 ♀) are transferred into egg-laying and mating boxes (Ø 3.5 cm, h 6.8 cm) with 2 freshly picked young green bean pods (*Phaseolus vulgaris* L.)
- 4: After two days, green bean pods potentially containing eggs are transferred into rearing boxes (Ø 5.5 cm, h 1.5 cm)
- 5: Eggs checked for hatching for 6-8 days
- 6: Neonats placed in contact with freshly picked very young green bean pods (length 1 to 2 cm) as food
- 7: Green bean pods changed every 2 days until the adult stage
- 8: Transfer of adults (obtained by rearing) to egg-laying and mating boxes containing 2 freshly picked young green bean pods

(Bernays and Chapman 1994; Hodkinson 2012). For mirids, a plant is considered a host if adults and nymphs of the species are found concomitantly (Esquivel and Mowery 2007). In many studies, the authors do not specify whether the plant is a nutritional medium, a reproduction medium, or both simultaneously, which can lead to confusion (Godfrey 2000). Our study took place between April 2012 and March 2015. Several plant species were sampled, looking for *O. palus* adults in various localities of the island and in mango orchards (altitudes between 0 and 300m). Sampling was performed on several plant organs, inflorescences (young and mature) and leaves (young and mature). Sampling was performed using a D-Vac foliage hoover type SH 56 (Stihl, Dieburg, Germany) with strong suction intensity. After each collection from an unknown plant, a plant sample was brought to the laboratory for identification by a botanist. Samples were brought to the lab, refrigerated and sorted to obtain *O. palus* adults. Adults were identified using a binocular microscope and a determination key (Atiama et al. submitted-a).

Plants on which large numbers of *O. palus* adults were found were subjected to an immediate second search for mirid nymphs. The vacuum machine was used but with low suction power on flowers so as not to damage the fragile mirid nymphs. The purpose of the collection was to determine the presence or absence of nymphs. A nymph density rating (low, medium, high) was given. Specific nymph identification was done using two recognized methods. Some of the nymphs were identified by molecular identification via barcoding (cytochrome C oxidase I) (Atiama et al. submitted-b). A morphological identification of adults obtained after nymph development on substrate was also performed. For the latter technique, the nymphs were gently picked from flowers and brought to the laboratory and to be placed in development.

Results

Rearing technology

Of the various rearing techniques and methods tested (nutrition and laying substrates), spawning adults and subsequent generations of *O. palus* were only obtained on green bean pods. The validated rearing technique is shown in Figure III-1 and the different steps are the followings. *O. palus* adults were collected *in situ* and were brought to the laboratory. They were then stored for 2 hours in a rearing room to allow for acclimatization. Twenty adults (ten female and ten male) were then placed using a mouth aspirator, into a coupling and laying

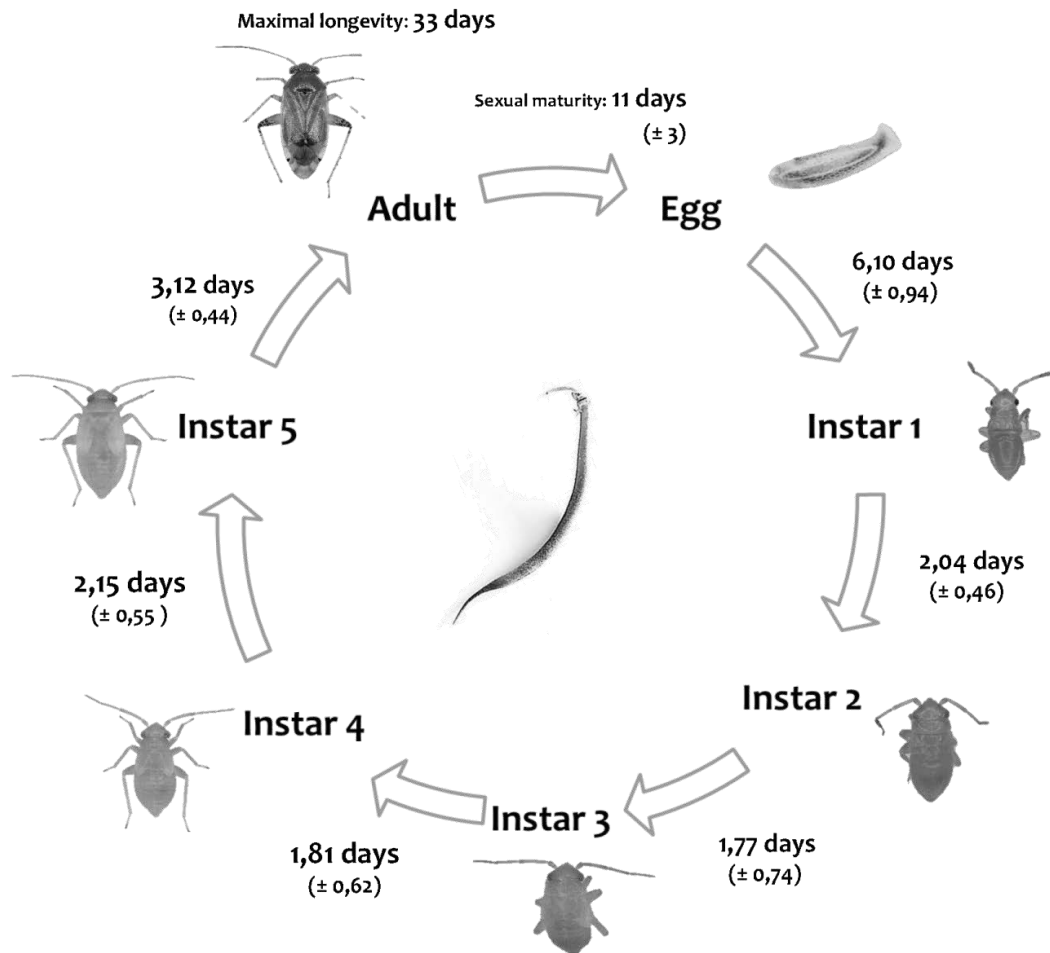


Figure III-2. Biological cycle of *Orthops palus* on green bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

Table III-1. Comparison of the duration of *Orthops palus* nymph stages on each of the three plants (green bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Brazilian pepper (*Schinus terebenthinifolius* Raddi), and mango (*Mangifera indica* L.)) in the laboratory

(Duration in days; standard deviation (\pm) and number of individuals (n); comparisons were made between the stages plant per plant (for a given plant, two different letters mean a significant difference in the GLM test, significance level 0.01)

Plant	Stage	Stage duration	Statistical analyses
Green bean	L1	2.04 \pm 0,46 (n = 24)	bc
	L2	1,77 \pm 0,74 (n = 44)	c
	L3	1,81 \pm 0,62 (n = 62)	c
	L4	2,15 \pm 0,55 (n = 72)	b
	L5	3,12 \pm 0,67 (n = 67)	a
Brazilian pepper	L2	1,65 \pm 0,70 (n = 17)	b
	L3	1,84 \pm 0,78 (n = 64)	b
	L4	2,02 \pm 0,59 (n = 86)	b
	L5	3,18 \pm 1,06 (n = 109)	a
Mango	L2	1,61 \pm 0,74 (n = 18)	b
	L3	1,77 \pm 0,62 (n = 40)	b
	L4	1,89 \pm 0,55 (n = 58)	b
	L5	3,01 \pm 0,44 (n = 75)	a

tube (transparent polypropylene tube Ø 3.5cm and 6.8cm high). Two healthy young and tender green bean pods (maximum length 5cm), produced without phytosanitary treatment, were placed in each tube. The tubes were placed in rearing room with a temperature of $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, a humidity of $65\pm 10\%$ and a photoperiod L/D of 16/08 hrs. Tubes were maintained every two days, with the replacement of green bean pods with freshly picked pods. The pods removed from the tubes were placed in a Petri dish (Ø 55mm) and carefully inspected for eggs under a binocular microscope. The Petri dishes were then inspected every two days for L1 or L2 nymph stages. After the first nymphs hatch, young and tender green bean pods (maximum length 3cm) are placed in Petri dishes to provide a good quality nutritional substrate for nymphs. The maturity of green bean pods can be increased for nymph stages L4 and L5 (their rostrum being stronger). We carefully monitored the Petri dishes containing the nymphs and removed the oldest green bean pods as they represented a risk of fungal and bacterial growth. After about 12-15 days, the adults were transferred to new mating and rearing tubes, thus beginning a new cycle. Under this rearing technique, *O. palus* individuals were bred until generation F3. 205 F1 nymphs were produced, of which 88 reached adulthood. Dozens of F2 and F3 generation adults and nymphs were obtained, thereby validating this rearing technique.

Nymph development periods

O. palus development times on bean pods and mango and pink pepper inflorescences are shown in Table 1. Among biological cycle, egg incubation period was obtained only on green bean pods using the rearing technique described above. On green bean pods, egg incubation period was 6.10 ± 0.94 days ($n = 21$), stage L1 has a duration of 2.04 ± 0.46 days ($n = 24$), L2 stage 1.77 ± 0.74 days ($n = 44$), followed by L3 stage of 1.81 ± 0.62 days ($n = 62$), L4 stage of 2.15 ± 0.55 days ($n = 72$) and L5 stage 3.12 ± 0.44 days ($n = 67$) (Figure III-2).

Statistical analysis on the comparisons of overall durations of nymph development revealed the substrate had no effect, but the nymph stage did (L5 was longer than all other stages; $p\text{-value} < 2e-16$). There was no interaction effect of substrate-stage. Furthermore, for a given plant, comparisons of nymph development periods showed, for the three substrates, that L5 was significantly longer than other stages. In addition, for green bean (in which L1 data were available), L4 was significantly longer than L2 and L3 (Table III-1).

Table III-2. *Orthops palus* host plants in Reunion Island, and importance of adult and nymph populations

Collected were realized between April 2012 and March 2015 using a foliage hoover type SH 56 (Stihl, Dieburg, Germany). Several plant species were sampled, looking for *O. palus* adults and nymph in various localities of the island and in mango orchards.

Plant			Samples of adults			<i>Orthops palus</i> adults		<i>Orthops palus</i> nymphs	<i>Orthops palus</i> nymph identification	
			Number of samples	Number of positive samples	Percentage of positive samples	Total <i>O. palus</i> adults	Average number of adults per sample	Nymph population	Verification using nymph development in the laboratory and achieving adults	Barcoding verification
Scientific names	Vernacular names	Vegetal family								
<i>Litchi chinensis</i>	Litchi	Sapindaceae	22	22	100%	1280	58.2	high	OK	
<i>Mangifera indica</i>	Mango	Anacardiaceae	8	8	100%	362	45.3	high	OK	
<i>Tamarindus indica</i>	Tamarind	Fabaceae	23	9	39%	312	34.7	low	OK	
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brazilian pepper	Anacardiaceae	111	106	95%	3337	31.5	high	OK	OK
<i>Persea americana</i>	Avocado	Lauraceae	10	10	100%	296	29.6	medium	OK	
<i>Dombeya spp.</i>	-	Sterculiaceae	33	27	82%	669	24.8	low	OK	
<i>Terminalia bentzoe</i>	Benzoin	Combretaceae	10	9	90%	184	20.4	low	OK	
<i>Sapindus saponaria</i>	-	Sapindaceae	10	9	90%	132	14.7	high	OK	
<i>Croton mauritianus</i>	-	Euphorbiaceae	10	7	70%	96	13.7	low	OK	
<i>Ziziphus mauritiana</i>	Jujube	Rhamnaceae	44	44	100%	428	9.7	low		OK
<i>Pithecellobium dulce</i>	-	Fabaceae	23	11	48%	73	6.6	low		
<i>Lobularia maritimum</i>	Alysson	Brassicaceae	107	17	16%	85	5.0	low	OK	
<i>Cajanus cajan</i>	Pigeon pea	Fabaceae	24	6	25%	26	4.3	low		OK
<i>Cordia africana</i>	-	Boraginaceae	23	12	52%	46	3.8	low		OK
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var. <i>Delinel</i>)	Green bean	Fabaceae	(Pod used as nutrition and spawning substrate in rearing methods)							

O. palus host plants

No bugs were collected from leaves. All *O. palus* adults and nymphs were collected from inflorescences of different plant species. In Reunion Island, as in Uganda, *O. palus* is always found on inflorescences. The number of samples taken varied from one plant species to another due to the availability in the field. A total of 63 plant species were sampled. A plant species exhibiting low or zero *O. palus* adult populations for a small number of samples cannot however be regarded as a non-host plant. Of plant species from which at least 10 samples were taken in various locations, *O. palus* adults were found in 15 species with averages ranging from 2.0 to 58.2 individuals per sample (Table III-2). Furthermore, samples taken on other plant species gave anecdotal adult populations (*Parthenium hysterophorus*, *Pongamia pinnata*, *Dimocarpus longan*, *Leucaena leucocephala*, *Acacia auriculiformis*, *Bougainvillea* sp., *Murraya koenigii*, *Jatropha moluccana*, *Clausena anisata*, *Eugenia uniflora*, *Coccinia grandis*, *Indigofera amoxylum*, *Senna siamea*, *Aloe ferox*, *Spondias dulcis*, *Tibouchine urvilleana*, *Melaleuca quinquenervia*, *Bidens pilosa*, *Poupartia borbonica*, *Erythroxylum hypericifolium*, *Cassia fistula*, *Acacia auriculiformis*, *Acacia farnesiana*, *Holniskioldia sanguinea*, *Sida cordifolia*, *Acacia moutteana*, *Rubus alceifolius*). Finally, some species did not host bugs (*Allamanda cathartica*, *Barringtonia asiatica*, *Coffea canephora*, *Coriandus sativum*, *Gossypium hirsutum*, *Crotolaria retusa*, *Cyanus segetum*, *Delonix regia*, *Dracaena reflexa*, *Durenta erecta*, *Heterotis decumbens*, *Ligustrum ovalifolium*, *Litsea glutinosa*, *Mammea americana*, *Melaleuca linariifolia*, *Moringa oleifera*, *Peltophorum pterocarpum*, *Schinus edule*, *Tecoma stans*, *Zea mays*, *Zyzygium cumini*, *Zyzygium jambos*, *Albizia lebbek*).

Of the 15 host species for *O. palus* adults, nymphs were found on 14 of them. Only the species *Lantana camara*, which had a substantial adult population, had no nymphs. Moreover, determination of the nymphs confirmed, regardless of the technique used, it was *O. palus*.

These 14 plants can be considered *O. palus* host plants. Grading can be done based on the population levels observed (Table III-2). Thus, mango, lychee, Brazilian pepper, *Sapindus saponaria* and avocado were host plants with more *O. palus* nymphs than on other plant species.

Discussion

For the first time, an *O. palus* rearing technique has been developed which allows several generations to be reared (Figure 1). To our knowledge, this is also the first time a species of the genus *Orthops* has been successfully reared. Green bean pods are used; they are a good nutrition and laying substrate for many mirid phytophagous of the *Lygus* complex (Slaymaker and Tugwell 1982; Whitbey 1999; Lu et al. 2008; Lu et al. 2010a; Fisher 2012; Spurgeon 2012). Young pods are particularly suited to laying adults and nutrition of young nymphs. Mirids prefer soft substrates which facilitate egg insertions and the insertion of the fragile rostrum of young nymph stages (Wheeler 2001). Furthermore, adult density for mating and egg laying is a key factor in the success of rearing mirids: optimal density retained in our study (0.3 individuals / cm³) is nearly 10 times that applied in other mired rearing methods (Ridgway and Gyrisco 1960; Bommireddy et al. 2004; Salerno et al. 2007). High densities promote encounters between individuals, and facilitate contact with the spawning substrate. However, too high rearing densities are also known to cause high mortality in adults and nymphs (Grundy et al. 2000; Agustí and Gabarra 2009) or other insects (Fox et al. 1999; Gibbs et al. 2004; Hari et al. 2008). Even if the rearing technique we have developed can be improved (e.g. increased density), it is functional and meets criteria that we set.

For the first time, main *O. palus* life cycle durations have been described (Figure III-2). On green bean pods, the development period (between the egg and the emergence of the adult) is 17.29 ± 3.75 days at 25°C. This duration is consistent with that in the literature where it is 15 days for several species of mirids at 25°C (Wheeler 2001). When *Lygus hesperus* is bred on green bean pods or weed hosts, development takes between 13.81 ± 1.47 and 17.34 ± 1.74 days (Chen and Parajulee 2010). Egg incubation at 25°C of 6.10 ± 0.94 days is also consistent with that of similar mirid species (Ridgway and Gyrisco 1960; Champlain and Butler 1967; Lu and Wu 2011). Similarly, the duration of each nymph stage on the three substrates in this study corresponds to what is described in the literature: 3 days for L1 and L5 stages and 2 days for

stages L2, L3 and L4 in the same conditions (25°C) (Stevenson and Roberts 1973; Khattat and Stewart 1977; Bailey 1986; Whitbey 1999; Armstrong 2009; Chen and Parajulee 2010; Lu et al. 2010a; Spurgeon 2012; Burla et al. 2014). The longer L5 stage has already been observed in other mirids, e.g. *Campylomma verbasci* (Smith and Borden 1991), *Creontiades dilutus* (Hori and Miles 1993) or *Nesidiocoris tenuis* (El-Dessouki et al. 1976). Additional data have also been obtained on a small number of individuals: a maximum lifespan of 33 days; female sexual maturity is estimated at 11 days after emergence of the adult. However, the absence of data on the average life of the adult stage does not allow accurate assessment of the duration of a full life cycle *O. palus*. Finally, statistical analyses showed that nymph development was not significantly influenced by the nutritional substrate (green bean, mango, Brazilian pepper), while diet did influence nymph development in many mirid species (Salerno et al. 2007; Dwomoh et al. 2008; Chen and Parajulee 2010).

Furthermore, our study identified 12 new *O. palus* host plants. These are in addition to previously identified species *Anacardium occidentale*, *Caesalpinia sepiara*, *Entada abyssinica* and *Triumfetta* sp. described in Uganda (Taylor 1947); lychee and mango in Reunion Island. The green bean can be added to this list as it used as a rearing and nutrition substrate. To date 19 *O. palus* hosts have been identified. This diversity in terms of species (19) and in terms of plant families (12) illustrates the wide host range of the insect. Strong polyphagia is denoted in species of the genus *Lygus* complex to which *Orthops* belongs (Eyles 1999). Indeed, some species, such as *Lygus hesperus* (Scott 1977) have been identified on more than one hundred plants from 24 different families. In addition, other species have been described on over 350 plant species: *Lygus lineolaris* (Young 1986); *Lygus rugulipennis* (Holopainen and Varis 1991); *Apolygus lucorum* (Lu and Wu 2008; Lu et al. 2010b; Lu et al. 2012; Pan et al. 2015)). *O. palus* seems to have a different attractiveness depending on the host plant. Litchi, mango, tamarind, Brazilian pepper, avocado, *Dombeya* spp., benzoin and *Sapindus saponaria* are the plants with the highest levels of adults per tree. A recent study of the genetic diversity of *O. palus* in Reunion Island confirmed the presence of adults on 6 of these 8 plants and shows population levels comparable to those of the present study (Atiama et al. submitted-b).

Like many species of mirids, *O. palus* was found only on the inflorescences of plants. This preference for flowering organs, among the richest areas in terms of nutrients, is observed in

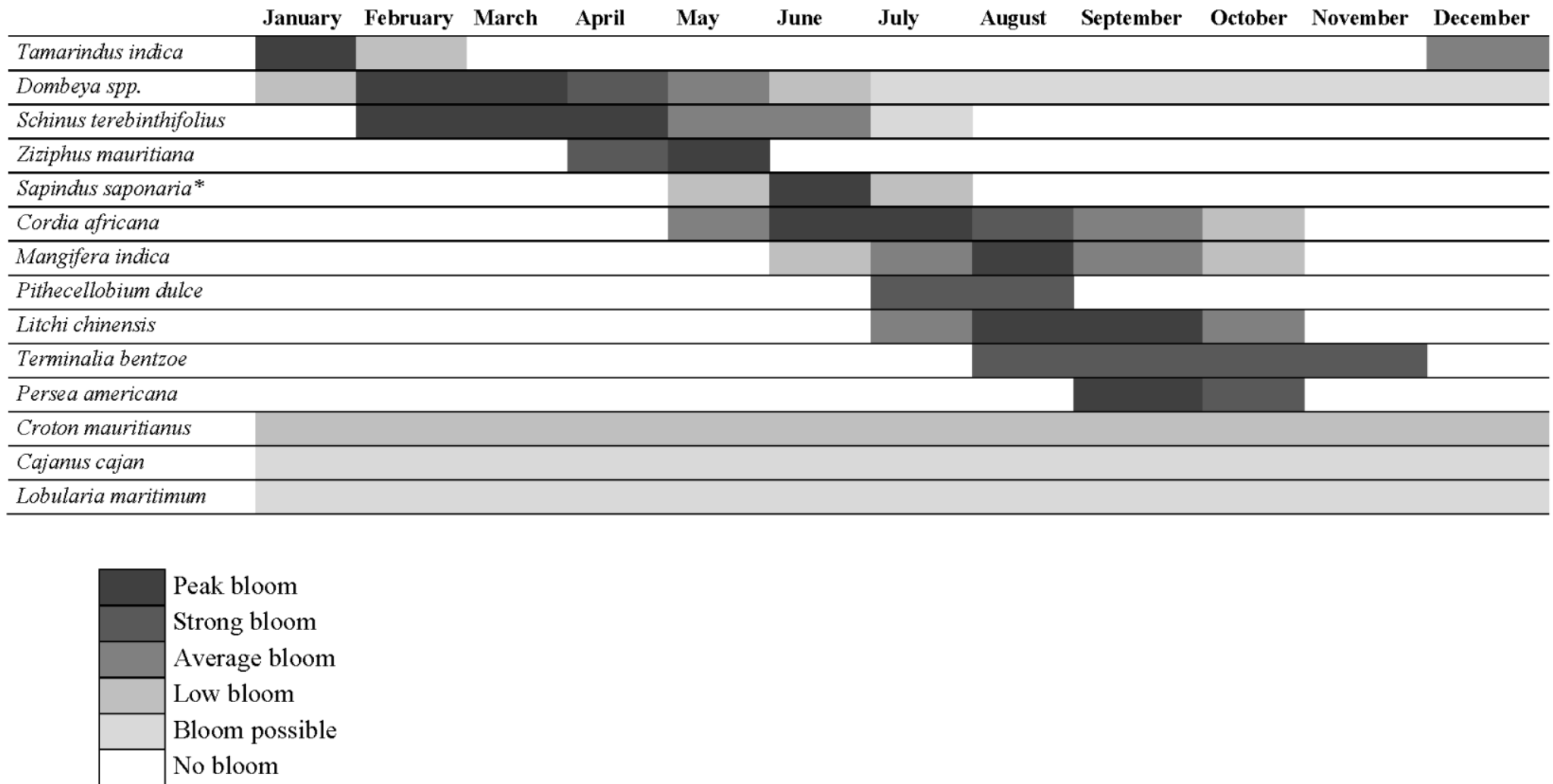


Figure III-3. Blooming calendar of host plant of *Orthops palus* in Reunion Island

* Species rare in Reunion Island (a few individual trees were identified)

Phaseolus vulgaris (green bean), the species used for nutrition and as the reproductive substrate in the rearing procedure, is not featured in this calendar because this species is very rare in Reunion Island (limited agricultural production).

many mirids (hence their nickname "flower bug") (Kullenberg 1944; Wheeler 2001). This preference is characterized by the passage of adults to other plants as they flower. Many mirid species are known to change host and habitat to have the best food sources (Snodgrass et al. 1984; Womack and Schuster 1987; Esquivel and Mowery 2007). These changes in host may be the result of an adaptation to limited resources, and result in improved fitness or subsequent population build-up (Rossi et al. 1996; Panizzi 1997). Before our study, data on *O. palus* (present only on mango and lychee flowers) suggested that the species was univoltine and active during the flowering of both species (July-October) and could enter diapause during the rest of the year. Indeed, diapause at the egg or adult stages is a common behaviour of the Miridae family (Chippendale 1982; Kobayashi and Numata 1995; Saulich and Musolin 1996; Kotaki 1998; Wheeler 2001; Musolin and Numata 2004; Spurgeon and Brent 2010; Brent 2012) and univoltine mirids of tropical regions are known to diapause at the harshest environmental conditions (Wheeler, 2001). Furthermore, in tropical countries, diapause is already known for some insect species (Dingle 1978; Tauber and Tauber 1981; Denlinger 1986; Tauber et al. 1986; Pieloor and Seymour 2001; Hahn and Denlinger 2011), even for insects present on mango trees in Reunion Island such as a mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Amouroux et al. 2014). Our study shows that the host range is broad and diverse and covers flowering throughout the year. Without questioning the possible entry into diapause, our results argue for the hypothesis that *O. palus* spends the year on different host plants as they flower. This assumption is all the more relevant as tropical environments, with their lack of intense cold season, are characterized by plants in bloom all year round. Figure III-3 shows the flowering periods of the 14 host plants identified in Reunion Island and confirms that potentially *O. palus* can survive and grow throughout the year moving from plant to plant, similar to the "flower bugs" described by Kullenberg (1944) and Wheeler (2001). In Reunion Island, nine of these host plants (*Tamarindus indica*, *Schinus terebinthifolius*, *Ziziphus mauritiana*, *Cordia africana*, *Mangifera indica*, *Pithecellobium dulce*, *Litchi chinensis*, *Terminalia bentzoe*, *Persea americana*) are widely spread over the island and could serve as year-long hosts of *O. palus*, but with large changes in populations. Population levels would be low between November and March when less "efficient" host plants bloom (*Tamarindus indica*) and would greatly increase during flowering of the most suitable host plants (*Schinus terebinthifolius*, *Mangifera indica*, *Litchi chinensis*). There may be other as yet unidentified host plants, and non-host plants suitable for the adult diet. All these hosts allow *O. palus* to maintain its numbers throughout the year and perform multiple generations per year, which would make it a multivoltine species in Reunion Island. This

multivoltinism confirms the suspicions of Henry and Lattin (1987) on the genus *Orthops* in temperate environments. Recent studies on *O. palus* nuclear and mitochondrial genetic diversity in Reunion Island, showing the absence of host-race, corroborate this passage from plant to plant during the year (Atiama et al. submitted-b; Atiama et al. in press). Indeed, the absence of population structure between host plants and shows that individuals present on different plants reproduce between themselves and different generations of bugs overlap. In order to confirm the hypothesis that *O. palus* is a "flower bug" and that it develops throughout the year in Reunion Island moving from plant to plant, future research should focus on studying the spatiotemporal dynamics of the insect on the plot scale (plant to plant movement studied via marking, release and recapture) in addition to diapause studies.

Conclusion

The biological results of our study (first data on the life cycle of *O. palus*, catalogue of host plants) will help implement agroecological management of *O. palus* populations. The bug has a sufficiently broad and diverse host range to support the hypothesis that it develops throughout the year by moving from one host plant inflorescence to another. Knowledge of *O. palus* hosts helps envisage their use as trap plants (Accinelli et al. 2005), and will also encourage mango producers to stop growing plants in their orchards that may serve as bug 'reservoirs' (Sundararaju et al. 2002; Vanitha et al. 2014).

Acknowledgments

The authors are extremely grateful to colleagues who helped collect samples (J. Rochat), helped determine plant species (E. Rivière, G. Lebreton), for help with statistical analyses (F. Chiroleu) and with taxonomic determination (A. Matocq). We thank the farmers for allowing us access to their fields to collect the mirids. We are grateful for the technical help provided by M.-L. Moutoussamy, C. Ajaguin Soleyen, C. Simiand, A. Franck, B. Beziat, F. Hoarau, S. Moretti, Y. Trouspance, M. Lefevre, M. Naze and T. Schmitt.

Funding

This study was funded by the Regional Council of Réunion, the General Council of Réunion, the French Government, the European Union (ERDF, EAFRD), the Trust Account for Agricultural and Rural Development (CASDAR- 1138 CASDAR 2011) and the CIRAD.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Accinelli G, Lanzoni A, Ramilli F, et al (2005) Trap crop: an agroecological approach to the management of *Lygus rugulipennis* on lettuce. Bull Insectology 58:9–14.
- Agustí N, Gabarra R (2009) Effect of adult age and insect density of *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) on progeny. J Pest Sci 82:241–246. doi: 10.1007/s10340-009-0245-1
- Amouroux P, Normand F (2013) Survey of Mango Pests in Reunion Island, with a Focus on Pests Affecting Flowering. IX Int Mango Symp 992:459–466.
- Amouroux P, Normand F, Delatte H, et al (2014) Diapause incidence and duration in the pest mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Felt), on Reunion Island. Bull Entomol Res 104:661–670. doi: 10.1017/S0007485314000480
- Armstrong J (2009) A comparison of rearing *Creontiades signatus* Distant on green bean pods or pea plants. J Entomol Sci 45(2):193–196.
- Atiama M, Deguine J-P, Delatte H (submitted-b) Population genetic structure of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae) in Reunion Island and bioecological implications.
- Atiama M, Deguine J-P, Delatte H (in press) Isolation and Characterization of Eleven polymorphic Microsatellite Markers developed for the mango bug, *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae). J Insect Sci.
- Atiama M, Ramage T, Jacquot M, et al (submitted-a) First study of mirid fauna (Heteroptera, Miridae) in mango orchards in Reunion Island.
- Bailey JC (1986) Infesting Cotton with Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) Nymphs Reared by Improved Laboratory Rearing Methods. J Econ Entomol 79:1410–1412.
- Bernays EA, Chapman RF (1994) Host-Plant Selection by Phytophagous Insects. Springer
- Bommireddy PL, Parajulee MN, Porter DO (2004) Influence of Constant Temperatures on Life History of Immature *Lygus elisus* (Hemiptera: Miridae). Environ Entomol 33:1549–1553. doi: 10.1603/0046-225X-33.6.1549
- Brent CS (2012) Classification of diapause status by color phenotype in *Lygus hesperus*. J Insect Sci 12:136.
- Buffington ML, Redak RA (1998) A comparison of vacuum sampling versus sweep-netting for arthropod biodiversity measurements in California coastal sage scrub. J Insect Conserv 2:99–106.

- Burla JP, Grille G, Lorenzo ME, et al (2014) Effect of Different Diets on the Development, Mortality, Survival, Food Uptake and Fecundity of *Tupiocoris cucurbitaceus* (Hemiptera: Miridae). Fla Entomol 97:1816–1824. doi: 10.1653/024.097.0458
- Champlain RA, Butler GD (1967) Temperature Effects on Development of the Egg and Nymphal Stages of *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae). Ann Entomol Soc Am 60:519–521. doi: 10.1093/aesa/60.3.519
- Chen C, Parajulee MN (2010) Development and Population Growth of *Lygus hesperus* on Selected Weed Hosts, Artificial Diet and Cotton in the Laboratory. J Econ Entomol 103:2009–2018. doi: 10.1603/EC09258
- Chippendale GM (1982) Insect Diapause, the Seasonal Synchronization of Life Cycles, and Management Strategies. Entomol Exp Appl 31:24–35. doi: 10.1111/j.1570-7458.1982.tb03116.x
- Deguine JP, Ferron P, Russell D (2009) Crop protection : from agrochemistry to agroecology. Science Publishers, Enfield, Jersey, Plymouth
- Denlinger DL (1986) Dormancy in Tropical Insects. Annu Rev Entomol 31:239–264. doi: 10.1146/annurev.en.31.010186.001323
- Dingle H (1978) Migration and Diapause in Tropical, Temperate, and Island Milkweed Bugs. In: Dingle H (ed) Evolution of Insect Migration and Diapause. Springer US, New York, NY, pp 254–276
- Dong-Soon K, Cho M-R, Lee J-H, et al (2002) Seasonal Migration of *Apolygus spinolae* (Hemiptera: Miridae) between Grapevines and Herbaceous Plants. J Asia-Pac Entomol 5:91–95. doi: 10.1016/S1226-8615(08)60136-3
- Doxon ED, Davis CA, Fuhlendorf SD (2011) Comparison of two methods for sampling invertebrates: vacuum and sweep-net sampling: Methods of Sampling Invertebrates. J Field Ornithol 82:60–67. doi: 10.1111/j.1557-9263.2010.00308.x
- Dwomoh EA, Afun JK, Ackonor JB (2008) Comparison of the developmental and survival rates, adult longevity and oviposition of *Helopeltis schoutedeni* Reuter (Hemiptera: Miridae) on cashew. J Cell Anim Biol 2:092–095.
- El-Dessouki SA, El-Kifl AH, Helal HA, others (1976) Life cycle, host plants and symptoms of damage of the tomato bug, *Nesidiocoris tenuis* Reut.(Hemiptera: Miridae), in Egypt. Z Pflanzenkrankh Pflanzenschutz 83:204–220.
- Esquivel JF, Mowery SV (2007) Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in Central Texas. Environ Entomol 36:725–730. doi: 10.1093/ee/36.4.725

- Etienne J, Roura A (1974) Note sur l'entomofaune des manguiers à la Réunion. In: Rapport Annuel de l'IRAT. IRAT, Saint-Denis, La Réunion, pp 89–92
- Eyles AC (1999) New genera and species of the *Lygus*-Complex (Hemiptera: Miridae) in the New Zealand subregion compared with subgenera (now genera) studied by Leston (1952) and Niasama Reuter. N Z J Zool 26:303–354. doi: 10.1080/03014223.1999.9518198
- FAOSTAT (2015) Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database. http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E.
- Fisher S (2012) Méthode d'élevage de *Lygus rugulipennis*. Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Nyon, Suisse
- Fox CW, Czesak ME, Savalli UM (1999) Environmentally based maternal effects on development time in the seed beetle *Stator pruininus* (Coleoptera: Bruchidae): consequences of larval density.
- Gibbs M, Lace LA, Jones MJ, Moore AJ (2004) Intraspecific competition in the speckled wood butterfly *Pararge aegeria*: Effect of rearing density and gender on larval life history.
- Godfrey LD (2000) *Lygus* bug ecology and implications for management in cotton. In: Proceedings of the 2000 *Lygus* Summit. University of California, Division of Agricultural and Natural Resources, Visalia, CA, p 81
- Grundy PR, Maelzer DA, Bruce A, Hassan E (2000) A Mass-Rearing Method for the Assassin Bug *Pristhesancus plagipennis* (Hemiptera: Reduviidae). Biol Control 18:243–250. doi: 10.1006/bcon.2000.0832
- Hahn DA, Denlinger DL (2011) Energetics of Insect Diapause. Annu Rev Entomol 56:103–121. doi: 10.1146/annurev-ento-112408-085436
- Hari NS, Jindal J, Malhi NS, Khosa JK (2008) Effect of adult nutrition and insect density on the performance of spotted stem borer, *Chilo partellus* in laboratory cultures. J Pest Sci 81:23–27. doi: 10.1007/s10340-007-0180-y
- Henderson IF, Whitaker TM (1977) The efficiency of an insect suction sampler in grassland. Ecol Entomol 2:57–60. doi: 10.1111/j.1365-2311.1977.tb00865.x
- Henry TJ, Lattin JD (1987) Taxonomic status, biological attributes, and recommendations for future work on the genus *Lygus* (Heteroptera: Miridae). In: Hedlund RCGHM (ed) Economic importance and biological control of *Lygus* and *Adelphocoris* in North America. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC, pp 54-68

- Hodkinson ID (2012) Insect Herbivory. Springer Science & Business Media
- Holopainen JK, Varis A-L (1991) Host plants of the European tarnished plant bug *Lygus rugulipennis* Poppius (Het., Miridae). J Appl Entomol 111:484–498. doi: 10.1111/j.1439-0418.1991.tb00351.x
- Hori K, Miles P (1993) The etiology of damage to lucerne by the green mirid, *Creontiades dilutus* (Stal). Aust J Exp Agric 33:327–331.
- Insa G, Rossolin G, Vincenot D (2002) La Mangue - Dossier Technico-Economique, 2nd edn. Chambre d'agriculture de La Réunion, Saint-Pierre, La Réunion, 32 pp
- Ireneo L, Lit J, Caasi-Lit MT, Eusebio OL (2014) Modified vacuum sampler for arthropods for monitoring non-target organisms in Bt-corn fields and other biodiversity studies. Philipp Entomol 28:99–103.
- Jackson RE, Allen KC, Snodgrass GL, et al (2014) Influence of Maize and Pigweed on Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) Populations Infesting Cotton. Southwest Entomol 39:391–400. doi: 10.3958/059.039.0301
- Kelton LA (1955) Genera and Subgenera of the *Lygus* Complex (Hemiptera: Miridae). Can Entomol 87:277–301. doi: 10.4039/Ent87277-7
- Khattat AR, Stewart RK (1977) Development and Survival of *Lygus lineolaris* Exposed to Different Laboratory Rearing Conditions. Ann Entomol Soc Am 70:274–278. doi: 10.1093/aesa/70.2.274
- Khattat S (1977) Development and Survival of *Lygus lineolaris* Exposed to Different Laboratory Rearing Conditions. Ann Entomol Soc Am 70:274–278.
- Kobayashi S, Numata H (1995) Effects of Temperature and Photoperiod on the Induction of Diapause and the Determination of Body Coloration in the Bean Bug, *Riptortus clavatus*. Zoolog Sci 12:343–348. doi: 10.2108/zsj.12.343
- Kotaki T (1998) Effects of low temperature on diapause termination and body colour change in adults of a stink bug, *Plautia stali*. Physiol Entomol 23:53–61. doi: 10.1046/j.1365-3032.1998.2310053.x
- Kullenberg B (1944) Studien über die Biologie der Capsiden, Zoologiska Bidrag Uppsula. Almqvist & Wiksell, Uppsala, 522 pp
- Kumar V, Kumar A, Nath V (2013) Emerging pests and diseases of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). Pest Manag Hortic Ecosyst 17:11–13.
- Logarzo GA, Williams L, Carpintero DL (2005) Plant Bugs (Heteroptera: Miridae) Associated with Roadside Habitats in Argentina and Paraguay: Host Plant, Temporal,

- and Geographic Range Effects. *Ann Entomol Soc Am* 98:694–702. doi: 10.1603/0013-8746(2005)098[0694:PBHMAW]2.0.CO;2
- Lu YH, Wu KM (2008) Biology and control of cotton mirids, Golden Shield Press. Beijing, China
- Lu YH, Wu KM, Cai XM, Liu YQ (2008) A rearing method for mirids using the green bean, *Phaseolus vulgaris* in the laboratory. *Acta Phytophyl Sin* 35:251–269.
- Lu Y, Jiao Z, Wu K (2012) Early Season Host Plants of *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae) in Northern China. *J Econ Entomol* 105:1603–1611. doi: 10.1603/EC12003
- Lu Y, Wu K (2011) Effect of relative humidity on population growth of *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae). *Appl Entomol Zool* 46:421–427. doi: 10.1007/s13355-011-0058-6
- Lu Y, Wu K, Wyckhuys KAG, Guo Y (2010a) Temperature-dependent life history of the green plant bug, *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) (Hemiptera: Miridae). *Appl Entomol Zool* 45:387–393. doi: 10.1303/aez.2010.387
- Lu Y, Wu K, Wyckhuys KAG, Guo Y (2010b) Overwintering hosts of *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae) in northern China. *Crop Prot* 29:1026–1033. doi: 10.1016/j.cropro.2010.03.017
- Macleod A, Wratten SD, Harwood RWJ (1994) The efficiency of a new lightweight suction sampler for sampling aphids and their predators in arable land. *Ann Appl Biol* 124:11–17. doi: 10.1111/j.1744-7348.1994.tb04110.x
- Maia MF, Robinson A, John A, et al (2011) Comparison of the CDC Backpack aspirator and the Prokopack aspirator for sampling indoor- and outdoor-resting mosquitoes in southern Tanzania. *Parasit Vectors* 4:124. doi: 10.1186/1756-3305-4-124
- Muchiri DR, Mahungu SM, Gituanja SN (2012) Studies on Mango (*Mangifera indica*, L.) Kernel Fat of Some Kenyan Varieties in Meru. *J Am Oil Chem Soc* 89:1567–1575. doi: 10.1007/s11746-012-2054-6
- Musolin DL, Numata H (2004) Late-season induction of diapause in *Nezara viridula* and its effect on adult coloration and post-diapause reproductive performance. *Entomol Exp Appl* 111:1–6. doi: 10.1111/j.0013-8703.2004.00137.x
- Pan H, Liu B, Lu Y, Wyckhuys KAG (2015) Seasonal Alterations in Host Range and Fidelity in the Polyphagous Mirid Bug, *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae). *PLoS ONE*. doi: 10.1371/journal.pone.0117153

- Pan H, Lu Y, Wyckhuys KAG (2013) Early-Season Host Switching in *Adelphocoris* spp. (Hemiptera: Miridae) of Differing Host Breadth. PLoS ONE 8:e59000. doi: 10.1371/journal.pone.0059000
- Panizzi AR (1997) Wild Hosts of Pentatomids: Ecological Significance and Role in Their Pest Status on Crops. Annu Rev Entomol 42:99–122. doi: 10.1146/annurev.ento.42.1.99
- Parajulee MN, Shrestha RB (2014) Metapopulation approach for landscape level management of western tarnished plant bug, *Lygus hesperus*, in Texas (Hemiptera, Miridae). Acta Phytophylacica Sin 41:761–768.
- Pickel C, Zalom FG, Walsh DB, Welch NC (1994) Efficacy of Vacuum Machines for *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) Control in Coastal California Strawberries. J Econ Entomol 87:1636–1640. doi: 10.1093/jee/87.6.1636
- Pieloor MJ, Seymour JE (2001) Factors affecting adult diapause initiation in the tropical butterfly *Hypolimnas bolina* L. (Lepidoptera: Nymphalidae). Aust J Entomol 40:376–379. doi: 10.1046/j.1440-6055.2001.00242.x
- Ridgway RL, Gyrisco GG (1960) Effect of temperature on the rate of development of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). Ann Entomol Soc Am 53:691–694.
- Rojas MG (2010) A New Colloidal Artificial Diet for *Lygus lineolaris* and *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae).
- Rossi AM, Brodbeck BV, Strong DR (1996) Response of xylem-feeding leafhopper to host plant species and plant quality. J Chem Ecol 22:653–671. doi: 10.1007/BF02033576
- Salerno G, Frati F, Conti E, Bin F (2007) Influence of different diets and oviposition substrates on *Lygus rugulipennis* biology (Heteroptera: Miridae). Eur J Entomol 104:417–423.
- Saulich AK, Musolin DL (1996) Univoltinism and its regulation in some temperate true bugs (Heteroptera). Eur J Entomol 93:507–518.
- Schwartz MD, Foottit RG (1992) *Lygus* bugs on the prairies. Biology, systematics, and distribution. Agric Can Res Branch Tech Bull 4E: 1-44.
- Scott DR (1977) An Annotated Listing of Host Plants of *Lygus hesperus* Knight. Bull Entomol Soc Am 23:19–22. doi: 10.1093/besa/23.1.19
- Slaymaker PH, Tugwell NP (1982) Low-Labor Method for Rearing the Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae). J Econ Entomol 75:487–488. doi: 10.1093/jee/75.3.487
- Smith RF, Borden JH (1991) Fecundity and development of the mullein bug, *Campylomma verbasci* (Meyer)(Heteroptera: Miridae). Can Entomol 123:595–600.

- Snodgrass GL, McWilliams JM (1992) Rearing the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) Using a Tissue Paper Oviposition Site. *J Econ Entomol* 85:1162–1166.
- Snodgrass GL, Scott WP, Abel CA, et al (2005) Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) Populations near Fields After Early Season Herbicide Treatment. *Environ Entomol* 34:705–711. doi: 10.1603/0046-225X-34.3.705
- Snodgrass GL, Scott WP, Abel CA, et al (2006) Suppression of Tarnished Plant Bugs (Heteroptera: Miridae) in Cotton by Control of Early Season Wild Host Plants with Herbicides. *Environ Entomol* 35:1417–1422. doi: 10.1093/ee/35.5.1417
- Snodgrass GL, Scott WP, Robbins JT, Hardee DD (2000) Area-wide management of the tarnished plant bug by reduction of early-season wild host plant density. *Spec Ed Lygus Manag* 59–66.
- Snodgrass GL, Scott WP, Smith JW (1984) Host Plants and Seasonal Distribution of the Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) in the Delta of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. *Environ Entomol* 13:110–116. doi: 10.1093/ee/13.1.110
- Spurgeon DW (2012) Physiological consequences of laboratory rearing of *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae). *Env Entomol* 41:415–419. doi: 10.1603/en11248
- Spurgeon DW, Brent CS (2010) Morphological characters of diapause in *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae). *J Entomol Sci* 45:303.
- Stevenson AB, Roberts M-D (1973) Tarnished plant bug rearing on lettuce. *J Econ Entomol* 66:1354–1355.
- Stewart AJA, Wright AF (1995) A new inexpensive suction apparatus for sampling arthropods in grassland. *Ecol Entomol* 20:98–102. doi: 10.1111/j.1365-2311.1995.tb00434.x
- Sundararaju D, Bhat PS, Raviprasad TN, others (2002) New refuge host plant for *Helopeltis* spp. *Insect Environ* 8:137–138.
- Swezey SL, Nieto DJ, Bryer JA (2007) Control of Western Tarnished Plant Bug *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) in California Organic Strawberries Using Alfalfa Trap Crops and Tractor-Mounted Vacuums. *Environ Entomol* 36:1457–1465. doi: 10.1603/0046-225X(2007)36[1457:COWTPB]2.0.CO;2
- Tauber CA, Tauber MJ (1981) Insect Seasonal Cycles: Genetics and Evolution. *Annu Rev Ecol Syst* 12:281–308. doi: 10.1146/annurev.es.12.110181.001433
- Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S (1986) Seasonal Adaptations of Insects. Oxford University Press, New York, NY, 411 pp

- Taylor THC (1947) Some East African species of *Lygus*, with notes on their host plants. Bull Entomol Res 38:233–258.
- Vanitha K, Srikumar KK, Bhat PS (2014) Record of weed fauna of cashew plantations as hosts of tea mosquito bug. The Ecoscan 8:221–224.
- Vincenot D, Normand F (2009) Guide de production intégrée de mangues à La Réunion, Cirad – Chambre d’Agriculture de La Réunion. Vincenot D.; Normand, F., Saint-Pierre, La Réunion, 122 pp
- Vincent C, Chagnon R (2000) Vacuuming tarnished plant bug on strawberry: a bench study of operational parameters versus insect behavior. Entomol Exp Appl 97:347–354.
- Wheeler AGJ (2001) Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists. Cornell University Press, Ithaca, NY, 507 pp
- Whitbey RM (1999) Green Bean Extract-Induced Oviposition Site Preference in Laboratory Reared Western Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae). Environ Entomol 28:201–204. doi: 10.1093/ee/28.2.201
- Wilson RL (1973) Rearing *Lygus* bugs on green beans: a comparison of two oviposition cages. J Econ Entomol 66:810–811.
- Womack CL, Schuster MF (1987) Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in the Northern Blackland Prairies of Texas. Environ Entomol 16:1266–1272. doi: 10.1093/ee/16.6.1266
- Young OP (1986) Host Plants of the Tarnished Plant Bug, *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). Ann Entomol Soc Am 79:747–762.

Planches photographiques

Planche 4

Planche 5

Chapitre IV

Diversité génétique et structuration des populations d'*Orthops palus*

Introduction

La génétique est ici utilisée comme un outil pour obtenir des informations complémentaires répondant à des questions écologiques. L'étude de la structuration génétique des populations permet de voir si une ou plusieurs populations existent dans un lieu donné. Cette étude est particulièrement importante car les traits de vie de nombreux organismes, et notamment des insectes, sont sous l'influence de nombreux facteurs biotiques et abiotiques (Shrestha, 2011).

A La Réunion, l'étude de la diversité et de la structuration génétique (ADN mitochondrial et nucléaire) permet d'obtenir des éléments de réponse apportant des contributions à des questions dont certaines ont déjà été abordées dans les précédents chapitres.

1) La large gamme de plante hôtes d'*O. palus* (15 plantes à La Réunion) peut laisser penser à l'existence de plusieurs populations de punaises, dont la structure pourrait être liée à l'hôte. Ce type de structuration a déjà été observé chez d'autres espèces de mirides (Hereward et al., 2013). Qu'en est-il pour *O. palus* ?

2) L'hypothèse selon laquelle *O. palus* passerait de plante en fleur à plante en fleur au cours de l'année a été émise dans le précédent chapitre. Observe-t-on une structuration des populations allant dans le sens de cette hypothèse ?

3) Pour rappel, *O. palus* n'est décrite qu'en Ouganda et à La Réunion. Les colonisations d'origine africaine sont courantes pour les îles du SOOI. Il est généralement observé une dispersion des espèces "au pas à pas" des îles les plus proches du continent vers celles les plus éloignées. Qu'en est-il pour *O. palus* ?

Les éléments de réponse à ces questions ont fait l'objet d'études regroupées dans le chapitre 4 qui s'organise en 3 articles :

- un premier article s'intitule "Isolation and Characterization of Eleven polymorphic Microsatellite Markers developed for the mango bug, *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae)"

accepté dans la revue "Journal of Insect Science" et portant sur la mise au point et sur le test des marqueurs microsatellites ;

- un deuxième article concerne sur l'étude de la diversité et de la structuration génétique des populations d'*O. palus* à La Réunion. Cet article intitulé " Population genetic structure of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae) in Reunion Island and bioecological implications "a été soumis à la revue "Ecology and Evolution" ;

- un troisième article traite de la diversité génétique des populations d'*O. palus* à l'échelle des quatre îles du SOOI où l'espèce a été retrouvée. Cet article reprend les résultats obtenus à La Réunion et y ajoute une étude approfondie de la diversité nucléaire d'*O. palus* à Maurice. Cet article intègre aussi une étude de la diversité mitochondriale à l'échelle des quatre îles. Ces travaux sur deux séquences de l'ADN évoluant à des vitesses différentes permettent d'émettre des hypothèses sur les échanges et les flux de populations d'*O. palus* entre les différentes îles.

Résumé des études du chapitre

Les études de génétiques des populations permettent de mieux comprendre les variations écologiques et les traits des espèces. Depuis quelques dizaines d'années, ces études sont en plein essor chez plusieurs groupes d'insectes dans le but de fournir des données pour des applications pratiques en matière de gestion des ravageurs. Un exemple intéressant est celui d'*Orthops palus*, un des principaux ravageurs de la mangue à La Réunion, appartenant à la famille des Miridae. Cette punaise qui fait des dégâts sur les inflorescences de manguier n'est déclarée qu'en Ouganda et à La Réunion, mais n'a jamais été recherchée dans d'autres territoires à proximité. La dynamique de l'insecte au cours de l'année est inconnue mais des travaux sur sa gamme d'hôtes de reproduction et de nutrition ont mis en évidence 15 espèces végétales à La Réunion sur lesquelles l'espèce est capable de se reproduire (Chapitre II). Bien que la diapause existe chez bon nombre de mirides des régions tempérées et tropicales, l'étude des périodes de floraison de ces plantes et les collectes sur le terrain met en évidence la possibilité pour *O. palus*, grâce aux floraisons dispatchées de ces plantes hôtes, de se maintenir toute l'année en passant de plante en fleur à en plante en fleur (Chapitre II).

Les objectifs de ce quatrième chapitre sont multiples. Dans un premier temps, il s'agit de développer un jeu de marqueurs neutres afin d'étudier la diversité génétique des populations observées. Dans un deuxième temps, il s'agit d'utiliser ces marqueurs pour déterminer la diversité génétique d'*O. palus* à La Réunion, et de tester la possibilité de la structuration de ses populations selon différents facteurs biotiques ou abiotiques (par exemple, tester la présence de race d'hôte). Dans un troisième temps, l'objectif est de réaliser des campagnes d'échantillonnage pour évaluer la présence d'*O. palus* dans les îles environnantes et d'évaluer leur diversité génétique et les potentiels flux de populations intra-île et inter îles.

Afin de répondre à ces questions, nous réalisons une banque de marqueurs microsatellites sur un pool d'individus de différentes localités prélevés à la Réunion (Chapitre IV-Article 1). Parmi les 356 séquences obtenues, nous réalisons un "screen" de 41 marqueurs sur des populations de La Réunion et de Maurice. Parmi ceux-ci, onze marqueurs sont ainsi mis au point pour étudier la diversité génétique nucléaire d'*O. palus*, avec toutefois de fortes valeurs d'allèles nulles. Ces fortes valeurs d'allèles nulles, retrouvées chez plusieurs espèces de

mirides, pourraient être le résultat d'échecs de PCR à cause de régions de type "Crytically Simple Sequence (CSS)", régions peu complexes et/ou contenant des motifs répétitifs bordant les régions microsatellites.

Nous étudions ensuite la diversité génétique de populations d'*O. palus* de 34 sites situées dans différentes zones agroécologiques sur tout le pourtour de La Réunion (de 0 à 900 m), sur différentes plantes hôtes (6 espèces), et à deux différentes saisons (Chapitre IV-Article 2). Cette étude est réalisée avec les 11 marqueurs microsatellites développés (8 marqueurs conservés dans les analyses) ainsi qu'avec le séquençage partiel du gène mitochondrial de la COI. Elle montre l'existence de deux clusters génétiques en sympatrie dans les 34 sites échantillonnés sur l'île. Néanmoins, les facteurs biotiques ou abiotiques structurant cette population n'ont pas pu être identifiés.

Nous cherchons ensuite la présence de cette espèce dans certaines îles environnantes de l'Océan Indien et évaluons la diversité génétique des populations. L'une de nos hypothèses sur la structuration des populations à La Réunion est une potentielle introduction d'une nouvelle population provenant de l'île la plus proche (Maurice). Ainsi, l'objectif est d'étudier la présence d'*O. palus* dans les îles et d'évaluer en détail la diversité et la structuration génétique à Maurice afin d'expliquer la structuration présente à La Réunion (flux de populations entre les îles). Un échantillonnage basé sur la même méthodologie est réalisé sur 14 sites permettant l'obtention de 554 individus sur trois plantes hôtes différentes (Chapitre IV-Article 3). *O. palus* est ainsi recensée dans les trois îles où elle a été recherchée (Maurice, Mayotte et Grande Comore) malgré un faible effort d'échantillonnage à Mayotte et en Grande Comore. L'analyse globale de la diversité de l'ADN nucléaire à La Réunion et à Maurice confirme l'existence de deux clusters génétiques à La Réunion et a révélé l'existence d'un seul cluster génétique à Maurice, différent de ceux présents à La Réunion. Toutefois, des individus comportant des assignations fortes à des clusters spécifiques de La Réunion sont retrouvés à Maurice et inversement dans le cas d'individus du cluster mauricien, mais en très faible quantité (<10%). Ces résultats démontrent des échanges entre les îles.

L'étude de la diversité mitochondriale met en évidence l'existence d'au moins sept haplotypes dans les quatre îles du SOOI échantillonnées. Maurice est l'île présentant le plus de diversité

mitochondriale avec quatre des sept haplotypes dont trois lui sont exclusifs. Le peu d'individus collectés à Mayotte et en Grande Comore ne permet pas d'être exhaustif sur les haplotypes présents sur ces îles. Les données sur la diversité de l'ADN mitochondriale associées à celles sur la diversité de l'ADN nucléaire (uniquement pour La Réunion et Maurice) témoignent d'échanges entre les îles.

Ainsi, des échanges ont eu lieu et ont lieu dans les deux sens entre La Réunion et Maurice. L'ensemble de ces échanges souligne une possible colonisation des îles du SOOI, selon un modèle de type "stepping stone". Les données de diversité de l'ADN nucléaire des populations d'*O. palus* de Maurice n'ayant pas permis de comprendre l'origine d'un des clusters réunionnais, des hypothèses sur l'origine de ces deux clusters sont émises. La première hypothèse serait qu'un des deux clusters présents à La Réunion soit arrivé récemment en provenance d'une population d'une île proche (ou de l'Afrique) non échantillonnée dans le cadre de nos travaux (autre que Maurice), et serait donc différent du cluster présent plus anciennement à La Réunion. La seconde hypothèse serait que les deux clusters, aujourd'hui présents à La Réunion, se seraient formés par isolation et différenciation d'une même population arrivée à La Réunion depuis un temps suffisamment long pour permettre cette différenciation. Les facteurs biotiques et abiotiques pouvant expliquer cette différenciation sont multiples. Les microclimats très divers à La Réunion faciliteraient l'isolement d'individus. De plus, un facteur lié à un phénomène d'incompatibilité cytoplasmique pourrait entrer en jeu. Ce type d'incompatibilité peut être induit par des endosymbiontes de type *Wolbachia*. Les bactéries du genre *Wolbachia* sont connues pour infecter entre 40 % et 66 % des espèces d'insectes (Hilgenboecker et al. 2008; Zug and Hammerstein 2012). De plus, les mirides sont connus pour être des hôtes de nombreux endosymbiontes de type *Wolbachia* ou *Rickettsia* (Kikuchi and Fukatsu 2003; Machtelinckx et al. 2012; Caspi-Fluger et al. 2014). La recherche d'endosymbiontes du genre *Wolbachia* dans les populations d'*O. palus* de La Réunion et l'étude de leur distribution au sein des deux clusters pourraient permettre d'expliquer cette structuration.

Journal of Insect Science

Research Article

Article 1: Isolation and Characterization of Eleven polymorphic Microsatellite Markers developed for the mango bug, *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae)

M. Atiama¹, H. Delatte¹, J.-P. Deguine¹

¹CIRAD, UMR PVBMT, 7 chemin de l'IRAT 97410 Saint-Pierre, La Réunion, France

Abstract

Miridae (Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha), or plant bugs, are one of the most diverse and species-rich families of insects. Most of them are phytophagous but some are insect predators and used for biocontrol. Among this family, the mango bug, *Orthops palus*, is one of the most important pest of mango in Reunion Island. We developed 11 polymorphic microsatellite loci to study the population genetics of this pest species. The microsatellite markers were characterized by genotyping 78 field-collected insects sampled at different localities in Reunion Island. The number of alleles per locus ranged from one to 13 and heterozygosity levels ranged between 0.40 and 0.94. Several loci were not at Hardy-Weinberg equilibrium for the tested populations. These markers are the first to be developed for a species of the genus *Orthops*.

Keywords: Agricultural pest, mirid, population genetics, Reunion Island

Introduction

Miridae (Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha), or plant bugs, are one of the most diverse and species-rich families of insects, with approximately 11,000 species described to date (Cassis & Schuh, 2012). Plant bugs are among the most common insects, the majority are phytophagous, and many are destructive pests of crops including alfalfa, apple, cocoa, cotton, sorghum, and tea (Wheeler 2001); but a large number are predacious (Sweetman 1958) and have been used successfully in biological control programs (Wheeler 2000). Certain omnivorous plant bugs are considered both harmful pests and beneficial natural enemies of pests on the same crop, depending on the prevailing environmental conditions (Wheeler, 2001). An interesting example is *Orthops palus* Taylor (Taylor 1947), better known as “The mango bug” (Heteroptera: Miridae: Mirinae), which is one of the most important pests on mango (*Mangifera indica* L.). This bug was first described in Uganda in 1947 (Taylor 1947) and first reported on Reunion Island in 1974 (Etienne and Roura 1974). Although it has only been formally identified in these two countries, its presence is strongly suspected in East Africa, particularly in neighboring countries of Uganda and in the Mascarene Islands.

Mango is the main tropical fruit produced worldwide and plays an important economic role in East Africa. In Uganda, it is the most widely distributed fruit (NAADS 2013) and in Kenya, it is the third fruit in terms of area and total production (FAO 2009). Mango losses result from damage caused by adults and nymphs of the mango bug picking and sucking mango inflorescences, and in Reunion Island, losses due to the bug have been reported to reach 100% some years (Insa et al. 2002). *Orthops palus* is a potential threat to mango production and to other crops due to its polyphagy (eating several plant families). However, little is known about the ecology of this pest. Knowledge of its population genetic structure would benefit the development of adequate management strategies.

The generally high level of polymorphism and high heterozygosity and the fact they are mostly neutral markers make microsatellites particularly suitable for studies of population genetic structure, gene flow and dispersal (Balloux and Lugon-Moulin, 2002; Estoup et al., 1995; Hoy, 2003; Jarne and Lagoda, 1996).

Microsatellite markers are also powerful tools to study insect evolutionary ecology linked to genetic variation at the population level, and to enable the identification of biotypes. Microsatellite markers can also be used to assess the importance of wild host plants as reservoirs of the pest and to better understand the relationship between pest populations on wild plants and crops (Agata et al. 2011). Microsatellite markers have been used to study gene flow among populations of another Miridae species (*Lygus lineolaris*: Perera et al. 2007, 2015; *Lygus hesperus*: Shrestha et al. 2007) but not in the mango bug. The aim of this work was to isolate and characterize new microsatellite markers to examine the genetic diversity and population structure of some *O. palus* populations.

Materials and methods

Specimen Collection. Collections of adults of *O. palus* were realized in three steps. First, for microsatellite development, 24 adult bugs were sampled at 17 different sites in Reunion Island (one or two individuals per site). Secondly, for selecting the primers and testing for polymorphism, 5 adult bugs from 5 different sites were collected. Thirdly, for characterizing the genetic diversity and genetic structure, 78 adult bugs were collected in four different populations of *O. palus* (different plant species at each site) from Reunion Island. All collections were realized by suction using a D-Vac on flowers of different plants species, but especially mango, Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) and jujube (*Ziziphus* sp.). Adult bugs were isolated. Taxonomic identification in Miridae family is difficult and morphological taxonomic identification was performed by a taxonomic expert in Miridae, Dr. Armand Matocq from the French Natural History Museum in Paris. In addition, to further verify their classification, the cytochrome oxidase subunit I (COI) was sequenced on some of the insects previously identified using taxonomy. Obtained sequences were submitted to GenBank (accession numbers KT201362 to KT201366). Reference specimens were also photographed and conserved in the CIRAD-3P La Réunion collection (vouchers MATI00039 to MATI00041).

DNA extraction. DNA was extracted from adults preserved in ethanol. Bugs were placed individually in a 2 ml Eppendorf tube with a glass bead containing 50 µl of buffer 1 (100 mM NaCl, 200 mM sucrose, 100 mM Tris-HCL (pH 9.1), 50 mM EDTA, and proteinase K at a

Table IV-1. Characteristics of the eleven microsatellite markers isolated from *Orthops palus*

Primer name	Primer sequence (5' to 3')	Repeat motif	Number of alleles	Allelic range	Fluorescent Dye	PCR multiplex set	Genbank Accession Numbers
CIROP38	F CACCAAGTGCTACATGGCAA R CACCTTCAAGACAACCCGTC	(CA) ₁₅	11	91-137	NED	1	KR827557
CIROP14	F TCCAGATGATCCTGTGAAACC R AAGACGAATTTATCTTGGGAGTG	(AG) ₉	9	279-299	NED	1	KR827558
CIROP18	F CCGAGTTTGCCAAAGTTTTTC R TAAACGAGATTCCGCGAGTT	(TC) ₈	9	265-293	6-FAM	1	KR827559
CIROP23	F TTCATTTGCTGAGGAATTACAAGA R CGTAAATAAGCAAGCTCTTAGACTGA	(CT) ₉	11	107-139	6-FAM	1	KR827560
CIROP11	F ACCCATCAAACCAACTCTGC R AAAACAACCGCTTGAAGAGC	(CA) ₁₄	19	183-271	VIC	1	KR827561
CIROP30	F TTCATCATCGGGAAGAGGTC R CTTTATATTGTGCTTTATTCGAAAG	(AC) ₁₀	13	112-168	VIC	1	KR827562
CIROP25	F TACTCCGTTGTATCACTACCCG R ATACAAGACTACCCGACGCC	(TC) ₉	11	124-158	PET	1	KR827563
CIROP10	F ACTTCACAGTGACTTCAATAAGCAA R CCCGCAGTACTAATTGTGAATTT	(AG) ₁₂	17	189-243	NED	2	KR827564
CIROP21	F AATGCAGATTCGCCATTTTC R TCGGTTCCCTAGCCATGTAG	(AG) ₈	5	170-194	6-FAM	2	KR827565
CIROP32	F TTTTCTTGAGTTGGCACCCCT R AATTTGCATCTTTCAAGCAATTA	(AG) ₁₁	17	122-166	VIC	2	KR827566
CIROP24	F ACCACATTGTCTGTTCAATGTACC R CCTAAACTTCAATTTTCAACAAGATG	(TC) ₉	15	134-170	PET	2	KR827567

Annealing temperature was 55°C for all primers.

final concentration of 100 µg/mL). The tubes were placed in a Mixer Mills (Retsch®) at 30 Hz for 1 min. After a brief centrifugation, 50 µl of buffer 2 was added (buffer 1 with 0.5% SDS) to each tube. The homogenate was incubated at 65 °C for 2 hours. A buffer 3 (12.5 µl) (8 M potassium acetate) was then added at a final concentration of 1 M and the mixture was centrifuged 15 min at 15 000 g. The supernatant was collected and mixed with 2.5 volume of absolute ethanol, left at room temperature for 5 min, and centrifuged again for 15 min at 15 000 g. The resulting precipitate was dried and suspended in 60 µL of TE (10 mM Tris-HCl, pH 8, 1 mM EDTA).

Microsatellite Development. Two pools of 12 individuals of *O. palus* sampled at 17 sampling localities were made and sent to GenoScreen© (Lille, France). Microsatellite-enriched libraries were developed using 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing (Malausa et al. 2011) by GenoScreen. The enriched library was constructed by optimization of classical biotin-enrichment methods (Kijas et al. 1994). Standard adapters were used Adap-F: GTTTAAGGCCTAGCTAGCAGAATC and Adap-R: GATTCTGCTAGCTAGGCCTT (Malausa et al. 2011). Probes were designed to enrich total DNA with these motifs: TG, TC, AAC, AGG, ACAT, ACG, AAG, ACTC.

One eighth of 454 run provided 336396 sequences of average fragment length of 223 bp. Prior to obtaining the results, a first filter was applied to discard short fragments (< 40 bp) and low intensity fragments which removed 21% of the sequences. The software QDD was then run on the 336936 sequences to identify microsatellite motifs and obtain primers flanking the microsatellite region (Megléczy et al. 2010). A total of 5743 sequences were obtained with microsatellite motifs.

Primers were designed for 356 loci (Annexe 4). We selected 41 primers of various lengths (Annexe 4) and tested them on five individuals from five different populations. The PCR cycling conditions consisted of denaturation for 5 min at 95 °C, 35 denaturation cycles for 30 s at 95 °C, 20 s at 55 °C, and 45 s elongation at 72 °C, and a final elongation for 10 min at 72 °C.

Eleven markers were selected due to their consistent amplification and high level of polymorphism. These 11 markers were fluorescently labeled (forward primer; Applied Biosystems) (Table IV-1) and multiplexed in two different PCR mixes using the same PCR program (Table IV-1). Multiplex PCR were performed in 15 µL reaction volumes containing

Table IV-2. Number of alleles (Na), observed (Ho) and expected (He) heterozygosity, Fis estimates and test for Hardy-Weinberg equilibrium (*p < 0.01) and null allele frequency in the four populations studied.

Locus	Avirons (n=7) - mango					Saint-Gilles 2 (n=24) - jujube					Saline Bellevue (n=19) - jujube					Sainte-Rose (n=28) - Brazilian pepper				
	Na	Ho	He	Fis	Null allele	Na	Ho	He	Fis	Null allele	Na	Ho	He	Fis	Null allele	Na	Ho	He	Fis	Null allele
CIROP10	7	0.33	0.91	0.66*	0.28	13	0.50	0.89	0.44*	0.23	10	0.27	0.91	0.72*	0.33	12	0.56	0.88	0.38*	0.15
CIROP21	3	0.29	0.58	0.53	0.68	2	0.05	0.40	0.88*	0.49	3	0.68	0.63	0.07	0.39	3	0.08	0.56	0.87*	0.64
CIROP24	7	0.57	0.88	0.37	0.12	10	0.35	0.89	0.61*	0.28	11	0.37	0.89	0.59*	0.29	12	0.46	0.88	0.48*	0.21
CIROP32	8	0.67	0.94	0.31	0.11	10	0.70	0.85	0.18	0.06	10	0.83	0.86	0.03	0.07	12	0.72	0.85	0.15	0.06
CIROP11	6	0.40	0.84	0.56*	0.35	11	0.13	0.91	0.86*	0.40	10	0.38	0.88	0.58*	0.26	13	0.52	0.89	0.42*	0.19
CIROP14	5	0.57	0.76	0.26	0.08	9	0.46	0.71	0.37*	0.18	5	0.39	0.79	0.52*	0.21	6	0.54	0.76	0.29*	0.12
CIROP18	5	0.67	0.58	-0.18	0.00	7	0.57	0.76	0.26*	0.09	7	0.53	0.67	0.21	0.08	6	0.56	0.67	0.18*	0.09
CIROP23	6	0.43	0.79	0.48	0.15	7	0.71	0.71	-0.00*	0.00	8	0.61	0.74	0.18	0.10	8	0.61	0.60	-0.01	0.00
CIROP25	4	0.50	0.74	0.35	0.08	5	0.44	0.68	0.36*	0.14	6	0.37	0.69	0.47*	0.19	9	0.61	0.73	0.17	0.08
CIROP30	4	0.17	0.56	0.72	0.22	8	0.21	0.86	0.76*	0.38	9	0.21	0.84	0.75*	0.37	11	0.46	0.87	0.48*	0.22
CIROP38	5	0.40	0.82	0.54	0.21	7	0.14	0.54	0.74*	0.32	1	-	-	-	-	8	0.10	0.73	0.87*	0.36

5 ng of DNA, 7.5 µL of 2X Type-it Multiplex PCR Master Mix (Qiagen), and 0.1 µM of each primer. Levels of variation of the 11 microsatellite loci were evaluated among the 78 individuals collected from four populations of *O. palus* from Reunion Island: Avirons (n = 7), St Gilles 2 (n = 24), Saline Bellevue (n = 19) and Sainte-Rose (n = 28) (sampling described in Material and methods).

One microliter of PCR products (1/20 dilution) was combined with 10.9 µL deionized formamide, and 0.1 µL of dye-labelled size standard (Life Technologies Gene-Scan AB500LIZ) and fragment analysis was performed on an ABI Prism 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Microsatellite Scoring and Population Genetic Analysis. Alleles were scored using GeneMapper v4.0 software (Applied Biosystems). Genepop v4.3 was used to calculate the number of alleles, the frequency of null alleles per locus according to Dempster et al. (1977), and to test for Hardy-Weinberg equilibrium and linkage disequilibrium (Rousset 2008). Observed and expected heterozygosities were estimated by Genetix v4.05.2 (Belkhir et al. 1996-2004). Population genetic structure was investigated by calculating pairwise F_{ST} values (Weir and Cockerham 1984) and the significance level was tested by 1000 permutations of multilocus individual genotypes as implemented by Arlequin v3.5.1.3 (Excoffier et al. 2007).

Results

Primer sequences, repeat motifs, GenBank accession numbers and fluorescent dye are listed in Table IV-1. The table summarizing all potential primers is available in Annexe 4. The 11 loci had between five and 19 alleles per locus among all 78 samples (Table IV-1). The most polymorphic loci were CIROP11 ($N_a = 19$), CIROP10 ($N_a = 17$), CIROP32 ($N_a = 17$) (Table IV-1) and CIROP21, CIROP14 and CIROP25 were the least polymorphic loci with five and nine alleles per locus, respectively (Table IV-1). Expected heterozygosities ranged from 0.40 to 0.94, and observed heterozygosities from 0.048 to 0.833 (Table IV-2). Two loci (CIROP10, CIROP24) showed significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($p < 0.01$) for the four populations tested but eight out of the eleven loci showed HWE for at least one of the 4 populations (Table IV-2). No significant linkage disequilibrium was detected among the 55 pairwise comparisons ($P > 0.05$). Null alleles occurred at some loci, with a frequency ranging from 0.00 (CIROP18; Avirons) to 0.68 (CIROP21; Avirons) (Table IV-2).

Table IV-3. Pairwise FST values of 4 populations of *Orthops palus* in Reunion Island

Mango, jujube and Brazilian pepper represent the plant on which the *O. palus* individuals were collected. * Probability that the FST value is statistically different from zero at $\alpha = 0.05$.

	Avirons - mango	Saint-Gilles 2 - jujube	Saline Bellevue - jujube	Sainte-Rose - Brazilian pepper
Avirons - mango				
Saint-Gilles 2 - jujube	0.06 *			
Saline Bellevue - jujube	0.01	0.03 *		
Sainte-Rose - Brazilian pepper	0.03 *	0.01	- 0.02	

Genetic differentiation (pairwise F_{ST}) ranged from -0.02 to 0.06 (Saline Bellevue and Sainte-Rose, respectively). Three F_{ST} values were statistically different from zero indicating significant levels of genetic differentiation among these three pairs of populations (Table IV-3).

Discussion

This is the first time that 454 pyrosequencing (next-generation sequencing) has been used to develop microsatellite markers for Miridae, and the first study on microsatellite markers for a species of the genus *Orthops*. We designed and characterize 11 polymorphic primers which will permit further studies of the genetic variability and population genetic structure of *O. palus* within its geographic distribution range.

The significant excess of homozygotes observed in several populations for 6 of the eleven loci (CIROP10, CIROP21, CIROP24, CIROP11, CIROP30, CIROP38) might result from a high incidence of null alleles (> 20%). Null alleles often result from a polymorphism in one or both of the forward and backward primers which prevent allele amplification (Callen et al., 1993; Chapuis and Estoup, 2007; Dakin and Avise, 2004; Paetkau and Strobeck, 1995; Pompanon et al., 2005). Null alleles are common in insects (Liu et al., 2006) and have already been observed in several mirid species (Babin et al., 2012; Kobayashi et al., 2011; Liu et al., 2006). We obtained a high level of null alleles despite the fact that we used a QDD analysis to find the primers. A recent publication by Meglecz *et al.* (2014), underlined that PCR or genotype failure could result from several phenomena including the incomplete filter of reads that might include short stretches of Cryptically Simple Sequence (CSS). These regions contain low complexity and/or semi-repetitive motives and are often present in flanking regions of microsatellites. Similarly, the distance between the primer and the target microsatellite was also important, and amplification improved for primers that were further from the microsatellites (Meglecz et al. 2014).

Thirty five species are recognized in the genus *Orthops*, including some closely related species that are widespread pests such as *O. campestris* or *O. kalmi* (Heshula and Hill 2012). Cross-species transferability of polymorphic markers such as microsatellites within and between genera in arthropods often yields returns (> 60 % transfer success between species

within a genus) (Barbará et al. 2007). However, the rapid evolution of these markers can render many of them useless even in closely related species due to the absence of the repeat or low repeat number/low polymorphism or changes in the nucleotide composition in flanking regions (Deitz et al. 2012). Nevertheless, several of the microsatellite markers developed here have repeat motifs over 10 dinucleotides and are polymorphic (in average 12.45 alleles per locus), so their transferability should be tested on other species within the genus *Orthops* and on species of closely related genera (e.g. *Lygus*).

Acknowledgments

The authors are extremely grateful to their colleague A. Matocq for his species identification. We thank C. Simiand, M.L. Moutoussamy, B. Béziat and T. Schmitt for technical assistance. We would like to thank the anonymous reviewers and particularly the editor Johanne Brunet for improving the manuscript. We also acknowledge financial support from the French *Région Réunion*, CIRAD, and the BIOPHYTO project.

References

- Agata, K., S. Alasaad, V. M. F. Almeida-Val, J. A. Alvarez-Dios, F. Barbisan, J.S. Beadell, J.F. Beltrán, M. Benítez, G. Bino, C. Bleay, P. Bloor, J. Bohlmann, W. Booth, E. Boscari, A. Caccone, T. Campos, B. M. Carvalho, G.T. Climaco, J. Clobert, L. Congiu, C. Cowger, G. Dias, I. Doadrio, I.P. Farias, N. Ferrand, P.D. Freitas, G. Fusco, P. M. Galetti, C. Gallardo-Escárate, M. W. Gaunt, Z. G. Ocampo, H. Gonçalves, E. G. Gonzalez, P. Haye, O. Honnay, C. Hyseni, H. Jacquemyn, M. J. Jowers, A. Kakezawa, E. Kawaguchi, C. I. Keeling, Y.-S. Kwan, M. La Spina, W.-O. Lee, M. Leśniewska, Y. Li, H. Liu, X. Liu, S. Lopes, P. Martínez, S. Meeus, B. W. Murray, A. G. Nunes, L. M. Okedi, J. O. Ouma, B. G. Pardo, R. Parks, M. N. Paula-Silva, C. Pedraza-Lara, O. P. Perera, A. Pino-Querido, M. Richard, B. C. Rossini, N. G. Samarasekera, A. Sánchez, J. A. Sanchez, C. H. D. A. Santos, W. Shinohara, R. C. Soriguer, A. C. B. Sousa, C. F. D. S. Sousa, V. M. Stevens, M. Tejedo, M. Valenzuela-Bustamante, M.S. Van de Vliet, K. Vandepitte, M. Vera, P. Wandeler, W. Wang, Y. -J. Won, A. Yamashiro, T. Yamashiro, and C. Zhu, with Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium. 2011. Permanent genetic resources added to Molecular Ecology Resources Database 1 December 2010-31 January 2011. *Mol. Ecol. Resour.* 11: 586–589.
- Babin, R., C. Fenouillet, T. Legavre, L. Blondin, C. Calatayud, A.-M. Risterucci, and M.-P. Chapuis. 2012. Isolation and Characterization of Twelve Polymorphic Microsatellite Loci for the Cocoa Mirid Bug *Sahlbergella singularis*. *Int J Mol Sci.* 13: 4412–4417.
- Balloux, F., and N. Lugon-Moulin. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol. Ecol.* 11: 155–165.
- Barbará, T., C. Palma-Silva, G. M. Paggi, F. Bered, M. F. Fay and C. Lexer. 2007. Cross-species transfer of nuclear microsatellite markers: potential and limitations. *Mol. Ecol.* 16: 3759–3767.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. and Bonhomme, F. 1996-2004 GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Callen, D.F., A.D. Thompson, Y. Shen, H.A. Phillips, R.I. Richards, J.C. Mulley, and G.R. Sutherland. 1993. Incidence and origin of “null” alleles in the (AC)_n microsatellite markers. *Am J Hum Genet* 52: 922–927.

- Cassis, G., and Schuh, R.T. 2012.** Systematics, Biodiversity, Biogeography, and Host Associations of the Miridae (Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha). *Annu Rev Entomol* 57: 377–404.
- Chapuis, M.-P., and A. Estoup. 2007.** Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol Biol and Evol* 24: 621–631.
- Dakin, E.E., and J.C. Avise. 2004.** Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93: 504–509.
- Deitz, K.C., V.P. Reddy, M.R. Reddy, N. Satyanarayanah, M.W. Lindsey, H.J. Overgaard, M. Jawara, A. Caccone, and M.A. Slotman. 2012.** Limited Usefulness of Microsatellite Markers from the Malaria Vector *Anopheles gambiae* When Applied to the Closely Related Species *Anopheles melas*. *J Hered* 103, 585–593.
- Dempster, A.P., N.M. Laird, and D.B. Rubin. 1977.** Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Methodol.* 1–38.
- Etienne, J., and A. Roura. 1974.** Note sur l'entomofaune des manguiers à la Réunion, in: Rapport Annuel de l'IRAT. Institut de recherches agronomiques tropicales. Saint-Denis, La Réunion, pp. 89–92.
- Excoffier, L., G. Laval, and S. Schneider. 2007.** Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinforma.* Online 1, 47–50.
- (FAO) Food And Agriculture Organization of the United Nations. 2009.** Value chain analysis: a case study of mangoes in Kenya. FAO, Kenya.
- Heshula, L.U.P., and Hill, M.P. 2012.** Effect of previous feeding by *Falconia intermedia* (Hemiptera: Miridae) on subsequent feeding activity on the invasive shrub *Lantana camara* (Verbenaceae). *Biocontrol Sci. Technol.* 22: 671–684.
- Hoy, M.A. 2003.** Insect molecular genetics: an introduction to principles and applications. Academic Press, San Diego, USA.
- Insa, G., G. Rossolin, and D. Vincenot. 2002.** La Mangue - Dossier Technico-Economique (édition 2002), 2nd ed. Chambre d'agriculture de La Réunion, Saint-Pierre, La Réunion.
- Jarne P. and J. L. Lagoda. 1996.** Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evol.* 11: 424–429.

- Kijas, J.M., J.C. Fowler, C.A. Garbett, and Thomas, M.R. 1994.** Enrichment of microsatellites from the citrus genome using biotinylated oligonucleotide sequences bound to streptavidin-coated magnetic particles. *BioTechniques*. 16: 656–660.
- Kobayashi, T., T. Sakurai, M. Sakakibara, and T. Watanabe. 2011.** Multiple origins of outbreak populations of a native insect pest in an agro-ecosystem. *Bull Entomol Res* 101: 313–324.
- Liu, Y.-D., Z.-C. Yang, and K.-M. Wu. 2006.** Eight polymorphic microsatellite markers developed in the green leaf bug, *Lygus lucorum* Meyer-Dür (Hemiptera: Miridae): PRIMER NOTE. *Mol Ecol Notes*. 7: 29–31.
- Malaus, T., A. Gilles, E. Meglécz, H. Blanquart, S. Duthoy, C. Costedoat, V. Dubut, N. Pech, P. Castagnone-Sereno, C. Délye, N. Feau, P. Frey, P. Gauthier, T. Guillemaud, L. Hazard, V. Le Corre, B. Lung-Escarmant, P.-J.G. Malé, S. Ferreira, and J.-F. Martin. 2011.** High-throughput microsatellite isolation through 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing of enriched DNA libraries. *Mol. Ecol. Resour.* 11: 638–644.
- Megléc, E., C. Costedoat, V. Dubut, A. Gilles, T. Malaus, N. Pech, and J.-F. Martin. 2010.** QDD: a user-friendly program to select microsatellite markers and design primers from large sequencing projects. *Bioinformatics* 26: 403–404.
- Megléc, E., N. Pech, A. Gilles, V. Dubut, P. Hingamp, A. Trilles, R. Grenier, and J.-F. Martin. 2014.** QDD version 3.1: a user-friendly computer program for microsatellite selection and primer design revisited: experimental validation of variables determining genotyping success rate. *Mol Ecol Resour* 14, 1302–1313.
- (NAADS) National Agricultural Advisory Services. 2013.** User Guide on Mango Production. NAADS, Kampala, Uganda.
- Paetkau, D., and C. Strobeck. 1995.** The molecular basis and evolutionary history of a microsatellite null allele in bears. *Mol Ecol*. 4: 519–520.
- Perera, O.P., J. Gore, G.L. Snodgrass, R.E. Jackson, K.C. Allen, C.A. Abel, and R.G. Luttrell. 2015.** Temporal and Spatial Genetic Variability Among Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) Populations in a Small Geographic Area. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 108: 181-192.
- Perera, O.P., G.L. Snodgrass, B.E. Scheffler, J. Gore, and C.A. Abel. 2007.** Characterization of eight polymorphic microsatellite markers in the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois). *Mol. Ecol. Notes*. 7: 987–989.
- Pompanon, F., A. Bonin, E. Bellemain, and P. Taberlet. 2005.** Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nat Rev Genet*. 6: 847–846.

- Rousset, F., 2008.** genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. Mol. Ecol. Resour. 8: 103–106.
- Shrestha, R.B., M.N. Parajulee, O.P. Perera, B.E. Scheffler, and L.D. Densmore. 2007.** Characterization of microsatellite loci in the western tarnished plant bug, *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae). Mol. Ecol. Notes. 7: 1342–1344.
- Sweetman, H.L. 1958.** The principles of biological control; interrelation of hosts and pests and utilization in regulation of animal and plant populations., The biological control of insects. W. C. Brown Co., Dubuque, Iowa.
- Taylor, T.H.C. 1947.** Some East African species of *Lygus*, with notes on their host plants. Bull. Entomol. Res. 38: 233–258.
- Weir, B.S., and C.C. Cockerham. 1984.** Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. Evolution 38: 1358.
- Wheeler, A.G. 2000.** Predacious Plant Bugs (Miridae), pp. 657-693. In C.W. Schaefer and A. R. Panizzi(eds.), Heteroptera of economic importance.CRC Press LLC, Boca Raton, USA
- Wheeler, A.G. 2001.** Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists. Cornell University Press, Ithaca, NY.

Article 2: Population genetic structure of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae) in Reunion Island and bioecological implications

Morguen Atiama^{1*}, Jean-Philippe Deguine¹, Hélène Delatte¹

¹ CIRAD, UMR PVBMT, 7 chemin de l'IRAT 97410 Saint-Pierre, Reunion Island, France

* corresponding author: morguen.atiama@cirad.fr

Abstract

Population genetics studies can help better understand ecological variations and species traits. Miridae are among the most diverse and species-rich insect families and include numerous pests of important crops. One interesting example is *Orthops palus*, a pest of mango in East Africa. In Reunion Island, this species is a primary pest that can cause up to 100% losses in orchards. Using eight microsatellite polymorphic loci, we investigated the genetic population structure of *O. palus* on different host plants at 34 sites, and according to different abiotic factors on Reunion Island. *O. palus* is characterized by high adaptability to different habitats (agroecosystems, natural ecosystems, climatic conditions, altitudinal ranges). This species has a broader host range than expected and could be a threat to cultivated crops such as mango, avocado, lychee and jujube. Our results suggest that *O. palus* manages to survive all year round by changing hosts and could have an even higher economic impact than expected. Clustering revealed that the *O. palus* population in Reunion Island is made up of two differentiated genetic clusters existing in sympatry at all sampling sites irrespective of the biotic (host plant) or abiotic factors tested. Hypotheses explaining this clustering are discussed. This study advanced our understanding of the bioecological characteristics of *O. palus* and will make it possible to improve pest management strategies.

Keywords: population genetics, mtCOI, SSR markers, pest management, ecology.

Introduction

In recent decades, there has been growing interest in studying the genetic structure of populations of different insect taxa to incorporate this information in practical applications such as pest management (Kobayashi et al., 2011; Lavandero et al., 2009; Porretta et al., 2007). In nature, insect populations may become genetically distinct because of reproductive isolation or lack of gene flow between different populations (Jiggins et al., 2001; Laffin et al., 2004; Mallet, 2001; Roderick, 1996). These genetic differences could result in variations in life traits, for example, in morphological, behavioral, or biological characteristics (climatic tolerance, host range), and are useful for predicting ecological processes in pest populations (Shrestha, 2011). Insect pest species with wide host ranges have been shown to be composed of genetically distinct subpopulations based on host plant affiliation (Brunner et al., 2004; Meng et al., 2008). Understanding the genetic population structure of a pest species could help understand variations in traits that will be useful in their control (Barman et al., 2013; Hartfield et al., 2012; Kim and Sappington, 2006; Lozier et al., 2008; Medina et al., 2010; Pashley, 1986; Thomas et al., 2003; Zepeda-Paulo et al., 2010).

Miridae (Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha), or plant bugs, are one of the most common, diverse and species-rich families of insects, with approximately 11,000 species described to date (Cassis and Schuh, 2012). The majority of plant bugs are phytophagous, and many are pests on crops including alfalfa, apple, cocoa, cotton, sorghum, and tea (Wheeler, 2001). On the other hand, numerous species are predacious (Sweetman, 1958) and have been used successfully in biological control programs (Wheeler, 2000). Some omnivorous plant bugs are considered to be both harmful pests and beneficial natural enemies of pests on the same crop, depending on the prevailing environmental conditions (Wheeler, 2001).

Different genetic markers have been already used to understand the structure of Miridae population using microsatellite markers (Hereward et al., 2013; Perera et al., 2015; Sanchez et al., 2012; Shrestha, 2011)) or to define species boundaries using mitochondrial DNA (cytochrome oxidase I and II genes) (Burange et al., 2012) and AFLP markers (Barman *et al.* 2013). Mitochondrial DNA has enabled identification of the genetic structure and cryptic complexes of many insect species (Besansky et al., 1997; Haine et al., 2006; Hebert et al., 2004; Mitchell et al., 1992; Salvato et al., 2002; Soto et al., 2001) highlight the need for

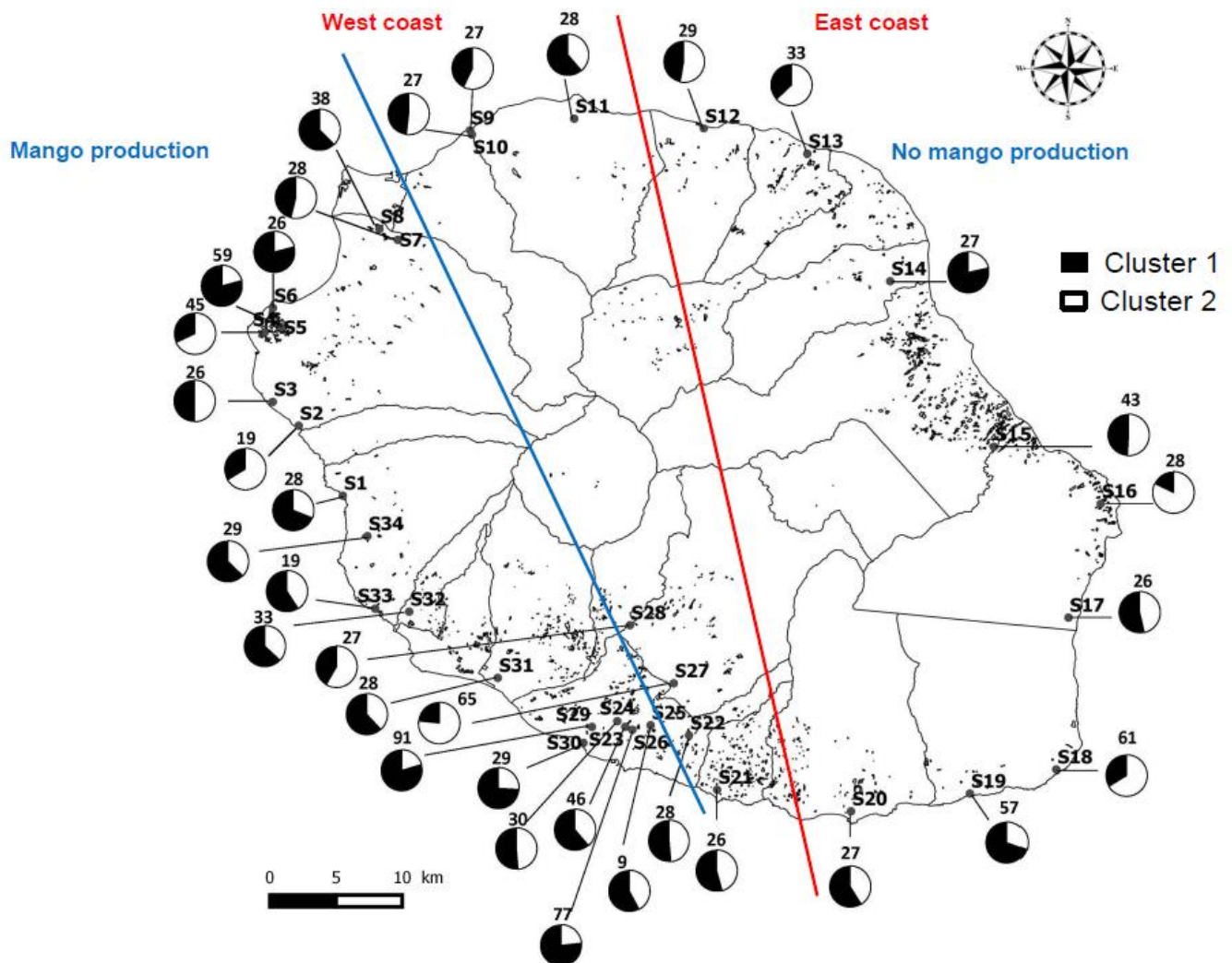


Figure IV-1. Spatial distribution of the two genetic clusters of *Orthops palus* at the 34 sites sampled in Reunion Island

Number of individuals genotyped per site is given at the top of each pie chart.

The mango production zone is in western part of the island / The lychee production zone is in the eastern part. The blue line delimits the mango production area and the red line delimits the east / west area used in AMOVA analysis.

taxonomic revision using both morphological and molecular markers, particularly in Miridae, a hyper-diverse taxon with a significant taxonomic impediment. This impediment was evidenced by low morphological variability in taxonomically important traits and by the recent discovery of numerous species.

The plant bug *Orthops palus*, is a pest on mango in East Africa. The bug was first described in Uganda in 1947 (Taylor, 1947), and was reported on Reunion Island in 1974 (Etienne and Roura, 1974), where it was named the mango bug because of the amount of damage it caused to mango. Mango is the fifth most important fruit crop in the world with more than 30 million tons produced worldwide each year (FAOSTAT, 2015). On Reunion Island, mango is the fourth most important fruit produced (Normand et al., 2011). *O. palus* is one of the most important mango pests on the island, where losses can reach 100% in orchards (Insa et al., 2002). Losses are the result of damage caused by both the larvae and adults of *O. palus* which pick and suck the cell content of mango inflorescences (Atiama et al., in press; Insa et al., 2002). Inflorescences desiccate and small flowers and ovaries fall off. Attacks are often rapid and lack of constant monitoring of population levels during flowering can be catastrophic. Little knowledge of *O. palus* distribution worldwide and on Reunion Island is available in the literature, but pest management strategies require an understanding of the bioecological and genetic diversity of this pest.

Up to now, *O. palus* has only been only reported feeding on mango and lychee flowers on Reunion Island. These species flower during the cool dry season from July to October. The fact that *O. palus* has only been described on these flowers suggests that *O. palus* could be univoltine during four consecutive months but could then enter and remain in diapause for the rest of the year. The recent description of four other host plants of *O. palus* (Atiama et al., in press) thus requires further investigation of the population dynamics, diapause, host diversity, host adaptation, population structure and genetic diversity of this bug.

Molecular analysis was performed to better understand the genetic diversity and structure of *O. palus* populations as a function of its host plants and of abiotic factors (seasons, sites, parts of the island).

Table IV-4. Host plants and sites in Reunion Island where *Orthops palus* was sampled
Altitude in meters; * sample collected at an agricultural site; - no accession number

Location	Site	Altitude	Number of samples genotyped	Number of samples analyzed	Number of females	Number of males	Host plant	Number of trees sampled	Number of samples collected	Mean of sample per tree	Date of collection	Accession number (attributed cluster)
Kélonia	S1	21	30	28	14	14	Brazilian pepper	8	136	17.00	March-April	KT357449 (1)
Saline - Bellevue	S2	19	20	19	6	13	jujube	3	20	6.67	March-April	KT357470 (2)
La Saline	S3	8	30	26	13	13	Brazilian pepper	20	62	3.10	March-April	KT357412 (2); KT357464 (2)
Saint Gilles 1	S4	59	30	29	29	15	Brazilian pepper	9	144	16.00	March-April	KT357427 (1); KT357425 (2)
			30	25	15	10	jujube*	34	38	1.12	March-April	-
			5	5	3	2	mango*	10	5	0.50	September-October	-
Saint Gilles 2	S5	113	30	24	13	11	jujube*	6	68	11.33	September-October	KT357465 (2)
			30	21	10	11	mango*	20	69	3.45	September-October	KT357439 (1); KT357451 (1); KT357408 (2)
			30	26	12	14	jujube*	19	56	2.95	March-April	KT357434 (1)
Cap LaHoussaye	S6	37	30	28	14	14	Brazilian pepper	16	207	12.94	March-April	KT357432 (1)
Lycee Agricole	S7	175	30	29	14	15	Brazilian pepper	12	42	3.50	September-October	KT357437 (1); KT357418 (1)
Piton Defaud	S8	114	11	9	5	4	mango*	16	11	0.69	September-October	KT357454 (2)
Grande Chaloupe 1	S9	12	30	27	13	14	jujube	3	41	13.67	March-April	KT357440 (1)
Grande Chaloupe 2	S10	23	30	27	13	14	Dombeya spp.*	5	159	31.80	March-April	KT357436 (1)
Saint Denis	S11	60	30	28	14	14	jujube	1	46	46.00	March-April	KT357422 (1); KT357424 (2); KT357446 (1); KT357459 (2)
Bois Madame	S12	26	30	29	15	14	Brazilian pepper	10	140	14.00	March-April	KT357431 (2)
Sainte Suzanne	S13	40	30	27	14	13	Brazilian pepper	10	141	14.10	March-April	-
			30	26	15	11	mango	5	205	41.00	September-October	KT357435 (1); KT357462 (2); KT357426 (1)
Bras Panon	S14	45	30	27	13	14	Brazilian pepper	16	72	4.50	March-April	KT357444 (1); KT357407 (1)
Saint Benoit	S15	231	23	19	8	11	avocado	3	23	7.67	September-October	KT357447 (1)
Sainte Rose 1	S16	83	30	28	15	13	Brazilian pepper	9	153	17.00	March-April	-
Sainte Rose 2	S17	99	30	26	11	15	Brazilian pepper	10	32	3.20	March-April	-
Saint Philippe	S18	55	30	27	15	12	avocado	2	42	21.00	September-October	KT357433 (1); KT357469 (2); KT357420 (1); KT357419 (2)
			30	28	14	14	Brazilian pepper	21	229	10.90	March-April	KT357467 (2); KT357423 (1)
			7	6	1	5	mango	10	7	0.70	September-October	-
			30	30	15	15	avocado	4	96	24.00	September-October	KT357455 (2); KT357413 (1)
Baril	S19	29	30	27	8	19	mango	4	30	7.50	September-October	KT357445 (1)
Langevin	S20	62	30	27	13	14	Brazilian pepper	12	249	20.75	March-April	KT357452 (2)
Grand Anse	S21	106	30	26	12	14	Brazilian pepper	10	119	11.90	March-April	-
Bras Banane	S22	452	30	28	15	13	avocado*	10	74	7.40	September-October	KT357448 (1); KT357461 (2); KT357416 (2); KT357429 (1); KT357417 (1); KT357415 (1); KT357430 (2)
Ligne Paradis 1	S23	157	30	23	11	12	Brazilian pepper	5	115	23.00	March-April	-
			24	23	15	8	Dombeya spp.	12	24	2.00	March-April	KT357411 (1)
Ligne Paradis 2	S24	141	30	30	15	15	jujube	5	66	13.20	March-April	KT357453 (2)
Bassin Martin	S25	230	11	9	2	7	avocado	5	11	2.20	September-October	-
Bassin Plat	S26	154	30	27	14	13	Brazilian pepper	26	114	4.38	March-April	KT357441 (1)
			30	26	12	14	lychee*	12	103	8.58	September-October	KT357438 (1)
			30	24	13	11	mango*	10	51	5.10	September-October	-
Terrain Fleuri	S27	510	30	24	13	11	Brazilian pepper	4	503	125.75	March-April	-
			45	41	22	19	Dombeya spp.	13	239	18.38	March-April	KT357442 (1); KT357460 (2); KT357409 (2)
Dassy	S28	541	30	27	13	14	Brazilian pepper	17	50	2.94	March-April	-
Pierrefonds	S29	77	30	26	12	14	Brazilian pepper	13	123	9.46	March-April	-
			41	38	8	30	lychee	5	27	5.40	September-October	KT357443 (1); KT357456 (2)
			30	27	14	13	mango*	13	44	3.38	September-October	KT357414 (2); KT357405 (2); KT357406 (2)
Pointe du Diable	S30	17	30	29	15	14	jujube	3	70	23.33	March-April	-
Le Gol	S31	27	30	28	15	13	Brazilian pepper	8	141	17.63	March-April	KT357450 (1); KT357428 (2)
Avirons	S32	266	30	26	13	13	Brazilian pepper	12	284	23.67	March-April	KT357457 (2); KT357466 (2)
Souffleur	S33	20	9	7	4	3	mango*	15	9	0.60	September-October	KT357410 (1)
			30	19	9	10	Brazilian pepper	21	45	2.14	March-April	KT357458 (2)
Saint Leu	S34	258	30	29	15	14	Brazilian pepper	16	35	2.19	March-April	KT357463 (2)
Total			1396	1239	620	634						

Material and Methods

Sample collection

Adults (1,396 specimens) of *O. palus* were collected across 34 locations on Reunion Island (Figure IV-1; Table IV-4). Specimens were collected with a D-Vac sampling device (a modified SH 56 leaf blower; Stihl, Dieburg, Germany) by aspiration on flowers or foliage. In each site and for each plant species, four 40-second aspirations were made on one to 34 trees. Several panicles of flowers and foliage on each tree were aspirated and samples were stored according to which organ they were collected on per tree. Collections were made on several host plants, with different status in each site: *Persea Americana* L. (avocado) (exotic and cultivated), *Schinus terebenthifolius* (Brazilian pepper tree) (exotic and not cultivated), *Dombeya* sp. (endemic to the Mascarene Islands and not cultivated), *Ziziphus mauritiana* Lam. (jujube) (exotic and cultivated), *Litchi chinensis* (lychee) (exotic and cultivated), *Mangifera indicae* (mango) (exotic and cultivated). Sampling was conducted during two periods in 2013 (March to April and September to October) depending on flowering resources and the flowering period of the different plants (Table IV-4; Figure IV-2). *O. palus* is mainly known for its presence on flowers, but sampling was also conducted on foliage to be sure of not missing any individuals. The host-plant status of *O. palus* was checked by collecting and barcoding mirid larvae and adults from each plant species.

Adults were primarily identified by their morphological characters according to Taylor (1947). Species identification of *Orthops palus* was then checked by A. Matocq, Miridae taxonomist at the Natural History Museum in Paris (France). Even though morphological characters provided sufficient information to enable identification of the species, molecular techniques (amplification and sequencing of mitochondrial DNA (mtDNA), Cytochrome oxidase subunit I (COI)) were used on 5% of individuals on the six host plants sampled (see below). After species identification, *O. palus* adults were sorted by sex, counted, and stored at -20 °C in 96% ethanol.

The abundance of *O. palus* adults per tree and/or per plant was compared using analysis of variance (ANOVA) with a linear model (lm) using R software (version 3.2.0, R Development Core Team, 2015, Vienna, Austria).

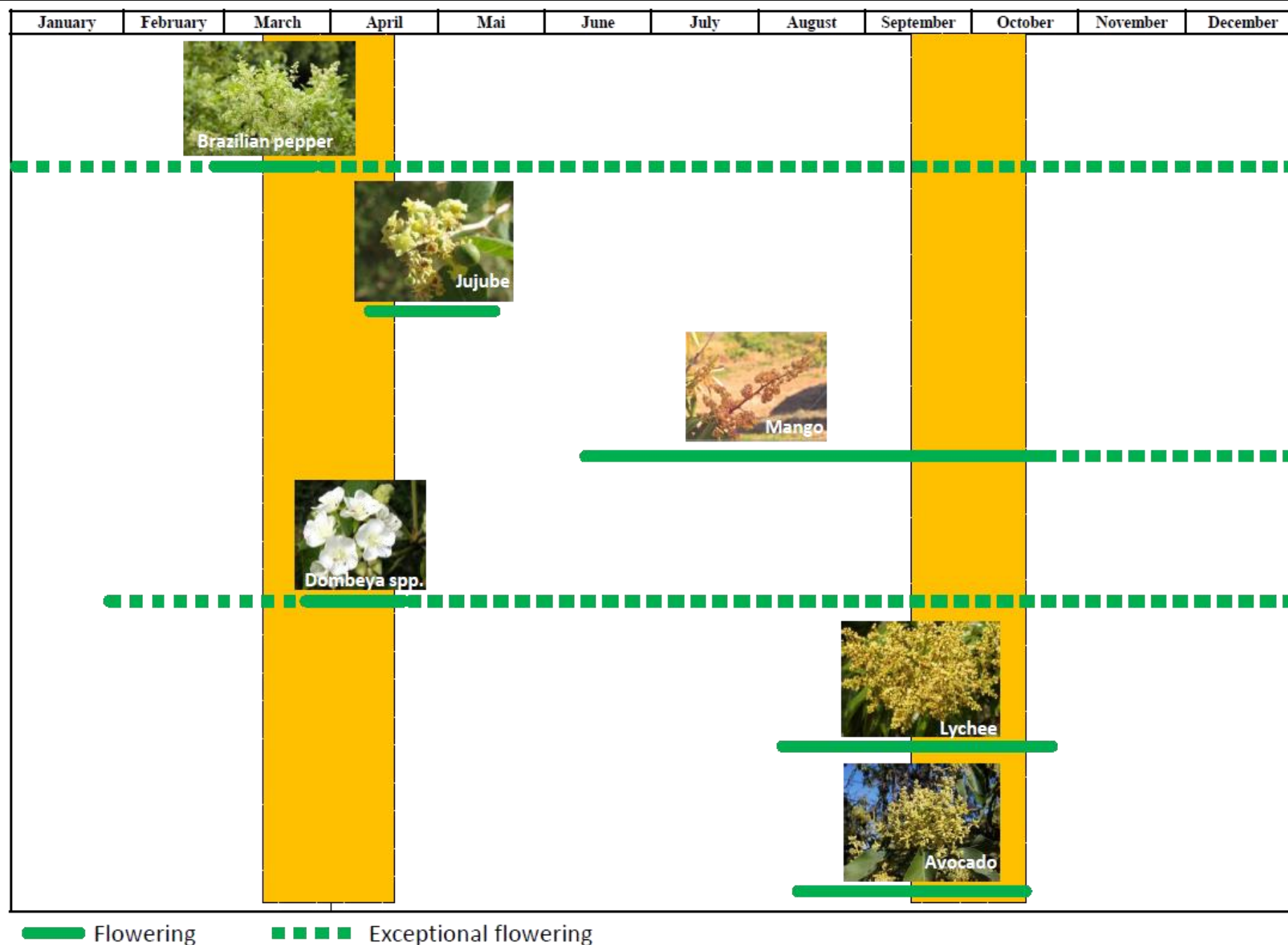


Figure IV-2. Flowering period of the six main host plants of *Orthops palus*
 Flowering period based on data in the literature and personal observation

DNA extraction

DNA was extracted from adults preserved in ethanol. Bugs were individualized in 2 ml Eppendorf tubes with a glass bead containing 50 µl of buffer 1 (100 mM NaCl, 200 mM sucrose, 100 mM Tris-HCL (pH 9.1), 50 mM EDTA, and proteinase K to reach a final concentration of 100 µg/mL). The tubes were then placed in a Mixer Mills (Retsch®) and centrifuged at 30 Hz for 1 min. After this brief centrifugation, 50 µl of buffer 2 was added (buffer 1 with 0.5 per cent SDS) to each tube. The homogenate was incubated at 65 °C for 2 hours. Then buffer 3 (12.5 µl) (8 M potassium acetate) was added to reach a final concentration of 1 M, and the mixture was centrifuged at 15,000 g for 15 min. The supernatant was collected and mixed with 2.5 volume of absolute ethanol, left at room temperature for 5 min, and centrifuged again at 15,000 g for 15 min. The resulting precipitate was dried and then suspended in 60 µL of TE (10 mM Tris-HCl, pH 8, 1 mM EDTA).

Mitochondrial DNA sequencing and analysis

The COI fragment of 66 individuals was sequenced using the primers LepF2_t1-3' and LepR1, which amplified a 658-bp fragment of the mitochondrial COI gene (Park et al., 2011).

PCR amplification was performed in a final volume of 15 µL including 5 ng of DNA, 0.5 µL of each primer at 10 pmol/µL and 7.5 µL of Master Mix Type-it 2X Qiagen®. We used the following procedure for amplification: denaturation at 95 °C for 5 min, 35 denaturation cycles for 30 s of at 95 °C, 1 min of hybridization at 48 °C, 1 min of elongation at 72 °C and a final elongation step of 10 min at 72 °C. PCR amplifications were checked on agarose gels (1%). The mtDNA fragments were sent to Macrogen® for sequencing bi-directionally on an ABI3730XL and then aligned, edited, and trimmed using MEGA 6 (Tamura et al., 2013).

These mtDNA sequences were used for a BLAST search of GenBank to check for already sequenced species.

PCR amplification and microsatellite genotyping

Each individual was genotyped at 11 polymorphic microsatellite loci (CIROP38, CIROP14, CIROP18, CIROP23, CIROP11, CIROP30, CIROP25, CIROP10, CIROP21, CIROP32, CIROP24) split into two multiplex PCR reactions (Atiama et al., in press) (Table IV-5).

Table IV-5. Primer information concerning the 11 loci used for *Orthops palus* populations

Na: number of alleles per locus; Null allele: percentage of null allele per locus; Missing data: percentage of missing data per locus; GenBank Accession N°: number of the accession on Genbank

PCR multiplex set	Dye	Primer name	Primer sequence (5'-3')	Repeat motif	Allele size range (bp)	Na	Null allele (%)	Missing data (%) for all samples	GenBank Accession N°	Missing data (%) for selected samples
1	NED	CIROP38	F CACCAAGTGCTACATGGCAA R CACCTTCAAGACAACCCGTC	(CA) ₁₅	87-167	24	30.3	38.4	KR827557	-
1	NED	CIROP14	F TCCAGATGATCCTGTGAAACC R AAGACGAATTTATCTTGGGAGTG	(AG) ₉	283-305	11	12.8	7.7	KR827558	8.3
1	6-FAM	CIROP18	F CCGAGTTTGCCAAAGTTTTC R TAAACGAGATTCCGCGAGTT	(TC) ₈	263-295	14	5.1	6.1	KR827559	6.5
1	6-FAM	CIROP23	F TTCATTTGCTGAGGAATTACAAGA R CGTAAATAAGCAAGCTCTTAGACTGA	(CT) ₉	75-153	17	7.4	1.8	KR827560	2.1
1	VIC	CIROP11	F ACCCATCAAACCAACTCTGC R AAAACAACCGCTTGAAGAGC	(CA) ₁₄	183-291	36	32.7	28.6	KR827561	-
1	VIC	CIROP30	F TTCATCATCGGGAAGAGGTC R CTTTATATTTGTCGTTTATTCGAAAG	(AC) ₁₀	96-178	23	33.7	23.6	KR827562	-
1	PET	CIROP25	F TACTCCGTTGTATCACTACCCG R ATACAAGACTACCCGACGCC	(TC) ₉	124-188	13	20.2	4.5	KR827563	4.5
2	NED	CIROP10	F ACTTCACAGTGACTTCAATAAGCAA R CCCGCACTACTAATTGTGAATTT	(AG) ₁₂	149-273	29	27.2	17.0	KR827564	14.2
2	6-FAM	CIROP21	F AATGCAGATTCGCCATTTTC R TCGGTTCCCTAGCCATGTAG	(AG) ₈	170-200	10	21.4	3.5	KR827565	0.4
2	VIC	CIROP32	F TTTTCTTGAGTTGGCACCCT R AATTTGCATCTTTCAAGCAATTA	(AG) ₁₁	94-198	24	14.3	7.2	KR827566	4.2
2	PET	CIROP24	F ACCACATTGTCTGTTCAATGTACC R CCTAAACTTCAATTTTCAACAAGATG	(TC) ₉	130-176	19	25.1	6.9	KR827567	4

Amplification reaction was performed in a total volume of 15 μL , containing approximatively 1 μL of DNA at 5 $\text{ng}/\mu\text{L}$, 0.1 μL of each primer at 20 $\text{pmol}/\mu\text{L}$ and 7.5 μL of Master Mix Type-it 2X Qiagen©. PCR amplifications were performed under the following conditions: an initial denaturation step for 5 min at 95 °C, followed by 35 cycles at 95 °C for 30 s, at 55 °C for 20 s and at 72 °C for 45 s, and a final elongation step at 72 °C for 10 min. One control consisting in the DNA of one chosen bug was included in all the different PCR-plates.

One microliter of PCR products (1:20 dilution) with 10.9 μL formamide and 0.1 μL of the dye-labeled size standard (GeneScan™ 500 LIZ® Size Standard) were analyzed by capillary electrophoresis (ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Microsatellite alleles were scored and checked manually with GENEMAPPER v4 software (Applied Biosystems).

Microsatellite/Genetic analyses

Between nine and 91 individuals were genotyped per site. Only individuals with less than 40% of missing data were used for the analysis. Microsatellite diversity within populations was estimated by the mean number of alleles (N_a), allele richness, observed (H_{obs}) and expected heterozygosity (H_{exp}), and unbiased expected heterozygosity (H_{nb}) (Nei, 1987) using GENETIX 4.05.2 (Belkhir et al., 1996). The multilocus fixation index (F_{is}) was estimated according to (Weir and Cockerham, 1984). The frequency of null alleles per population was calculated using GENEPOP 4.3 (Rousset, 2008) and per locus was calculated by FREENA 1.0 (Chapuis and Estoup, 2007) according to Dempster *et al.* (1977). Deviations from Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) and genotypic linkage disequilibrium were tested using the two-tailed Fisher’s exact test and the composite linkage disequilibrium test implemented in GENEPOP 4.3 (Rousset, 2008). The significance of tests was assessed with Markov-chain randomization based on 1,000 dememorizations, 100 batches, and 5,000 iterations per batch. Inter-population genetic structure was investigated by calculating pairwise F_{ST} values (Weir and Cockerham, 1984) with significance level tested by 1,000 permutations of multilocus individual genotypes as implemented by ARLEQUIN 3.5.1.3 (Excoffier et al., 2007). The proportion of genetic variance that can be attributed to between-population and within-population comparisons using analysis of molecular variance (AMOVA) was calculated in ARLEQUIN 3.5.1.3 (Excoffier et al., 2007). The significance of the variance components was tested with 10,000 permutations. The factors tested were host plant, east/west coast (see

separation lines in Figure IV-1), sampling period and mango production area vs. area with no mango production.

The population structure of the dataset was analyzed using a Bayesian approach implemented in the software STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). The program was run 10 times for each K value using the admixture model with a burn-in period of 100,000 iterations and then 1,000,000 iterations of a Markov chain Monte Carlo with K equals 1–20. The *ad hoc* statistic ΔK , based on the rate of change in the log probability between successive K values, was used to detect the optimum number of clusters (K)(Evanno et al., 2005) using STRUCTURE HARVESTER (Earl and vonHoldt, 2012). Posterior estimates of cluster memberships were summarized using CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson and Rosenberg, 2007) and visualized in DISTRUCT 1.1 (Rosenberg, 2004).

Principal component analysis (PCA) based on Euclidean distances among multilocus genotypes was implemented to summarize the genetic variability of the microsatellite data set using the R packages *adeigenet 1.3-4* and *ade4* (Chessel et al., 2004; Jombart, 2008). PCA was used to ordinate specimens as a function of their assignment to a cluster by STRUCTURE. An alternative clustering analysis with a discriminant analysis of principal component analysis (DAPC) was used to check the structure of the dataset using the R package *adeigenet 1.4*. The DAPC analysis, which is not based on a particular population genetics model, supports deviations from HWE, null alleles, and linkage disequilibrium (Jombart et al., 2010). The best supported number of clusters using the Bayesian information criterion (BIC) for the values of K was selected using the *find.clusters* function. The optimum a-score was also used to determine the optimum number of principal components to maximize the power of discrimination while minimizing the risk of overfitting.

Results

Host plant status and phenology

Mirid larvae were found on each plant sampled at each site (from sea-level (8 m) up to 541 m, Table 1). All the larvae were *O. palus*. All the individuals were collected on flowers, none were found on foliage. The six chosen host plants flower at different periods but allow *O. palus* access to flowers throughout the year (Figure IV-2).

Table IV-6. Genetic variability of *Orthops palus* populations per site

Site, code according to Table 1; N, number of individuals analyzed per population; N_a , mean number of alleles per site; H_{obs} , observed heterozygosity; H_{exp} , expected heterozygosity, H_{nb} , unbiased expected heterozygosity (Nei, 1987) F_{IS} , (Weir and Cockerham, 1984) estimate of Wright's (1951) fixation index; All populations deviate from Hardy-Weinberg equilibrium (experiment-wise $P < 0.05$ after false discovery rate correction), A_r : Allelic richness per site, A_n : mean null allele frequency based on the study by Dempster et al. (1977). Standard deviations are in parentheses.

Site	N	N_a	H_{obs}	H_{exp}	H_{nb}	F_{IS}	A_r	A_n
S1	28	8.38	0.440	0.713	0.726	0.394	5.69	0.155
S2	19	7.50	0.499	0.755	0.778	0.353	5.90	0.142
S3	26	9.00	0.489	0.735	0.751	0.366	5.95	0.141
S4	59	10.50	0.420	0.731	0.737	0.430	5.96	0.177
S5	45	9.63	0.440	0.724	0.733	0.400	5.92	0.168
S6	26	8.75	0.419	0.703	0.718	0.408	5.97	0.174
S7	28	9.38	0.422	0.763	0.777	0.464	6.29	0.195
S8	38	9.00	0.441	0.720	0.730	0.397	5.58	0.168
S9	27	8.50	0.387	0.746	0.761	0.483	5.85	0.203
S10	27	8.13	0.412	0.719	0.734	0.455	5.69	0.186
S11	28	9.13	0.417	0.740	0.754	0.444	6.03	0.188
S12	29	8.88	0.460	0.714	0.727	0.369	5.94	0.146
S13	53	10.88	0.410	0.749	0.757	0.461	6.16	0.199
S14	27	8.00	0.397	0.688	0.702	0.434	5.61	0.167
S15	43	9.00	0.419	0.707	0.716	0.422	5.58	0.167
S16	28	8.00	0.393	0.686	0.699	0.435	5.56	0.181
S17	26	8.38	0.518	0.728	0.743	0.303	5.67	0.123
S18	61	10.50	0.515	0.781	0.788	0.339	6.17	0.141
S19	57	10.13	0.382	0.722	0.730	0.502	6.02	0.205
S20	27	8.50	0.448	0.758	0.773	0.429	6.14	0.181
S21	26	8.38	0.465	0.755	0.771	0.399	5.97	0.171
S22	28	8.50	0.494	0.745	0.758	0.354	5.92	0.149
S23	46	9.75	0.453	0.736	0.745	0.387	5.94	0.167
S24	30	9.13	0.404	0.761	0.774	0.478	6.22	0.203
S25	9	5.38	0.420	0.685	0.728	0.430	5.25	0.162
S26	77	11.38	0.424	0.724	0.729	0.411	5.85	0.173
S27	65	10.75	0.432	0.712	0.718	0.393	5.64	0.166
S28	27	8.38	0.472	0.748	0.763	0.371	5.74	0.153
S29	91	11.50	0.543	0.733	0.737	0.259	6.06	0.117
S30	29	8.75	0.482	0.714	0.727	0.337	5.98	0.141
S31	28	8.88	0.439	0.708	0.721	0.399	5.90	0.162
S32	33	9.50	0.374	0.750	0.763	0.500	6.12	0.208
S33	19	7.38	0.500	0.731	0.753	0.335	5.88	0.144
S34	29	8.88	0.488	0.733	0.746	0.344	5.92	0.143
Mean		9.02	0.445	0.730	0.743	0.402	5.88	0.167
Min		5.38	0.374	0.685	0.699	0.259	5.25	0.117
Max		11.50	0.543	0.781	0.788	0.502	6.29	0.208

Abundance of *O. palus* adults per tree was variable among host plant (Figure IV-S1). Means of sample per tree were ranged between 6.99 (mango) to 16.9 adults per tree (*Dombeya spp*) but there was no significant difference between plants ($F = 0.3676$, $df = 5$, $p\text{-value} = 0.868$).

Genetic diversity

Among the 11 microsatellite loci used, three loci (CIROP11, CIROP30, CIROP38) were removed after the first analysis because of their high percentage of missing data ($> 23\%$), and high levels of null alleles ($> 30\%$; Table IV-5).

In total, 1,239 individuals out of 1,396 were successfully genotyped with up to 40% of missing data. Nine to 91 individuals were genotyped per site (Table IV-4). All loci were polymorphic with a number of alleles per locus ranging from 10 (CIROP21) to 29 (CIROP10) (Table IV-5). The analysis of eight loci in 34 populations revealed a mean number of alleles (N_a) of between 5.37 and 11.50 (average: 9.02 alleles per locus per population) and allelic richness ranging from 5.25 to 6.29 (average: 5.88 alleles per locus per population) (Table IV-6). H_{exp} ranged from 0.685 to 0.781. Multilocus values of F_{IS} per site ranged from 0.259 (S29) to 0.502 (S19). All F_{IS} values were significant, with no populations under the HWE. Very little significant linkage disequilibrium was observed after Bonferroni correction (59 of 952 combinations (6.20%)).

Mitochondrial DNA

A 633 bp sequence of the COI gene was obtained for the 66 tested individuals. Mitochondrial COI sequences of *O. palus* showed low genetic diversity with only two haplotypes, with one varied nucleotide in 633 bp (position 317, C and T; accession numbers from KT357405 - KT357470; Table IV-4).

Population structure

No significant differentiation was observed between host plant groups (AMOVA, $F_{SC}=0.016$, Table IV-S1). The same absence of a clear pattern was obtained using a PCA graphical representation (data not shown). A significant difference was observed between sites and sampling dates (AMOVA, $F_{SC}=0.016^*$, Table IV-S1), but explained only 0.23% and 0.04% of the overall molecular variance, respectively.

Genetic differentiation between sites (pairwise F_{ST}) was low, ranging from -0.016 (S19 and S24) to 0.091 (S16 and S5), with 371 out of 1,122 significant comparisons (Table IV-S2).

STRUCTURE analysis revealed a population structured in two clusters, with a ΔK that reached its maximum (350) at value 2, using the method of Evanno *et al.* (2005) (Figure IV-S2). The population of *O. palus* was split into two genetic clusters, with 44.15% (n=547) of individuals assigned to cluster 1 (blue in Fig. IV-S4) and 55.85% (n=692) to cluster 2 (red in Fig. IV-S4) (using a threshold of 50% of assignment). The majority of populations at 12 sites were assigned to cluster 1, while 32 sites were assigned to cluster 2. Mixes of the two clusters were observed at every site (Figure IV-1). Concerning DAPC analysis, the best K-means (using BIC) separated the individuals into two clusters and to a lesser extent, into three clusters (Figure IV-S3). The optimum a-score (0.5) was obtained for the optimum number of two principal components for the DAPC. A random distribution of the two mitochondrial haplotypes at all sites and in all genetic clusters was observed: haplotype 1 (base 317=Cytosine) (Cluster 1: 42.9% (n=15); cluster 2: 57.1% (n=20)) (test binomial, p-value=0.09) and haplotype 2 (base 317=Thymine) (Cluster 1: 58.1% (n=18); cluster 2: 41.9% (n=13)) (p-value = 0.10).

Discussion

The mango bug *O. palus* was found all year round on the inflorescences of a broader range of hosts on Reunion Island than previously described. Furthermore, the populations studied were found to display low mitochondrial diversity but high nuclear diversity structured in two genetic clusters not linked to any of the biotic or abiotic factors tested.

O. palus was found throughout Reunion Island and from sea level up to 550 m asl. on different plants and in very diverse habitats, all year round (austral summer and winter) in our samples. Reunion Island represents a particular meteorological context dominated by a wide range of microclimates which provides various micro-habitats. *O. palus* thus shows strong adaptability to very different habitats (cultivated crops, wild endemic crops, climatic conditions, altitudinal ranges). In this context, it will be very interesting to check its presence in other Mascarenes Island with similar ecosystems, and in other neighboring regions such as East Africa, close to Uganda where it was first described (Taylor, 1947). The presence of *O.*

palus in this area might represent an as yet unevaluated risk for cultivated crops like mango but also for jujube and maybe other crops (NAADS, 2013).

Before the present study, *O. palus* was only reported to breed on five plant species (*Mangifera indica* L., *Anacardium occidentale*, *Caesalpinia sepiara*, *Entada abyssinica*, *Triumfetta* sp.) of five families in Uganda (Taylor, 1947) and, in Reunion Island, to be present on only two species of two different families (mango (Insa et al., 2002) of Anacardiaceae and lychee (Chambre d'Agriculture de La Réunion, 2002) of the Sapindaceae family). Our sampling revealed the presence of *O. palus* on six plants species (avocado, mango, Brazilian pepper, *Dombeya* spp, jujube, and lychee), of which one species is endemic (*Dombeya* spp) to Reunion Island. These plants belong to five different families (Lauraceae, Anacardiaceae, Malvaceae, Rhamnaceae, Sapindaceae). *O. palus* thus has a broader host range than previously thought and attacks other cultivated species than those described previously, such as jujube and avocado. This is the first description of *O. palus* on three new plant families (Lauraceae, Malvaceae, Rhamnaceae). Furthermore, all the hosts tested appeared to be equally suitable. The increased number of host families for this species is not surprising, since it is a member of the *Lygus* genus, whose species are known to be generalist feeders. Species of this genus use more than 300 wild host plants as foraging resources (Young, 1986). *Orthops palus*, which is part of the *Lygus*-complex (Eyles, 1999; Henry and Lattin, 1987; South, 1991) and which has long been called *Lygus palus*, has a wider host range than originally described. Nevertheless, further investigations should be carried to look for other host plants.

No genetic evidence for a host race of *O. palus* was found on Reunion Island. However, host races of mirid species have already been described in other genera. Populations of *Creontiades dilutus* (Stal), a mirid pest of cotton, in Australia showed clear host-associated genetic differentiation between *Cullen australasicum* and alternative hosts in the same geographic area (Hereward et al., 2013). This lack of host association by *O. palus* on Reunion Island could be linked to its broad host range.

O. palus preference for flowering organs was confirmed by our sampling. Indeed, no individuals of *O. palus* were found on the six host plants during their non-flowering period. This physiological preference for flowers and buds is known in many species of mirid bugs (commonly named “flower bugs”) that prefer to feed on these relatively energy-rich plant

tissues (Wheeler, 2001). Another phenomenon directly linked to their preference for flower organs, is that many mirid bugs usually track a succession of flowering plant species (Pan et al., 2013; Wheeler, 2001), with colonization beginning at the formation of floral buds or flowers (Fleischer and Gaylor, 1987), and maximum abundance attained in the blooming period (Womack and Schuster, 1987). Several mirid bugs (e.g. *Lygus lineolaris*) are known to frequently change host plant and habitat to locate suitable food sources (Esquivel and Mowery, 2007; Snodgrass et al., 1984; Womack and Schuster, 1987). Host switching could be an adaptation to restricted food sources, and result in improved fitness or subsequent population build-up (Panizzi, 1997; Rossi et al., 1996). The independent genetic structure of the host plants suggests that *O. palus* may behave in this way and move from one resource to another all year round. The high capacity of *O. palus* to shift between different host plants, its wide host range, and the continuing existence of flowering resources throughout the year in tropical regions (Fig. IV-2), suggest that populations of *O. palus* are probably active throughout the year. Personal observations of population dynamics during the year confirm that others plants are used by *O. palus* from November to June (author's personal observations). This population dynamics suggests two hypotheses (i) no obligatory diapause of *O. palus* in Reunion Island (ii) if there is a diapause, only part of *O. palus* populations enter facultative diapause. Diapause is known in bugs of the *Lygus* complex and within the *Orthops* genus in temperate areas (Wheeler, 2001) and is even obligatory physiological behavior in some bugs (Saulich and Musolin, 1996). However, the incidence of diapause in the tropics is not the same as in the temperate zone. This is mainly because seasonal cycles at low latitudes do not always produce such clear-cut changes in environmental conditions that entirely prevent continuous development (Bale and Hayward, 2010). However, there are several examples of prolonged periods of diapause (Denlinger, 1986) in tropical insects, which enables, for example, the African grasshopper *Zonocercus variegatus* (L.) to survive in the dry season (Page, 1980), or the anthophorid bee *Epicharis zonata* (F. Smith) to reduce its activities during the rainy season (Roubik and Michener, 1980). Diapause is also more difficult to detect in species in tropical regions than in temperate regions (Tauber and Tauber, 1981) and diapause in Miridae in tropical areas is poorly studied. However, an interesting study was conducted on another important mango pest on Reunion Island, the blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Felt) (Amouroux et al., 2014) and revealed that diapause was facultative (most commonly in insects (Bale and Hayward, 2010)) and the authors found no genetic link to it. Diapause could be very useful to improve survival rate during unpredictable catastrophic events such as hurricanes, which are common in this part of the

Indian Ocean (Soula and Menu, 2005). Further experiments should be conducted on the population of *O. palus* to check for the existence of facultative diapause.

O. palus populations in Reunion Island display significant nuclear diversity (average expected heterozygosity: 0.730) and are structured in two clusters (congruence between the Bayesian structure analysis and DAPC) in sympatry and independent of any of the biotic (host plant, mango growing area versus other) or abiotic factors (season, sites, climatic zones, etc.) analyzed in this study. However, several insect models from Reunion Island showed population genetic structure (Amouroux et al., 2013; Jacquard et al., 2013) including the fruit fly *Bactrocera cucurbitae*, whose structure was found to be strongly dependent on abiotic factors (Jacquard et al., 2013). In the present study, genetic cluster 2 appeared to be the most abundant, it comprised 54.1% of all individuals (threshold taken at more than 70%) and was dominant in 21 out of 34 sites. This cluster has a narrower host range than the other genetic cluster, as it is present in all plant species except *Dombeya* sp. Cluster 1 contained 41.2% of the individuals. A low percentage of hybrids (4.7%, using the 70% threshold) was found. Two mitochondrial haplotypes with only one different nucleotide were found and their distribution was not found to be related to host plant and site. Furthermore, after analysis of 66 individuals in each cluster, no correlation was found between this polymorphism and microsatellite-based genetic clusters. The genetic structure of *O. palus* with few hybrids within sympatric populations in Reunion Island could be the result of two phenomena (i) the recent introduction of populations, (ii) partially incompatible crosses between populations, such as cytoplasmic incompatibility induced by endosymbiont bacteria. Many heteropteran families, for example, the Miridae family, are known to be host to many specific facultative bacterial endosymbionts (such as *Wolbachia* sp. and *Rickettsia* sp.) belonging to γ - and β -proteobacteria or actinobacteria (Caspi-Fluger et al., 2014; Kikuchi and Fukatsu, 2003; Machtelinckx et al., 2012). These intracellular bacterial endosymbionts are very varied in arthropods and could influence their hosts (Zchori-Fein and Bourtzis, 2011) by creating cytoplasmic incompatibility, which is a barrier to hybridization (Gotoh et al., 2006; Machtelinckx et al., 2009; White et al., 2009). In this context, it would be interesting to study the presence of endosymbiont bacteria and their influence on the population genetic structure of *O. palus*.

Despite the large number of alleles found per marker (from 11 to 36), per site or per population, high levels of null alleles (> 10%) were found for six of our eight microsatellite

markers. Null alleles often result from polymorphism in one or both of the forward and backward primers and prevent allele amplification (Callen et al., 1993; Chapuis and Estoup, 2007; Dakin and Avise, 2004; Paetkau and Strobeck, 1995; Pompanon et al., 2005). Null alleles are common in insects (Liu et al., 2006) and high levels have already been observed in several mirid species (Babin et al., 2012; Kobayashi et al., 2011; Liu et al., 2006). This high null allele rate could be the result of mutation in the flanking region of the microsatellite, or be linked to our sampling method, i.e. by collecting too many consanguine individuals because of the gregarious behavior of the insect. However, great care was taken in sampling, and, except in some rare cases, a minimum of four trees of each species was sampled in each site with an average of 11 trees per site.

Conclusion

O. palus has a broader host range than expected and could be a threat to cultivated crops including mango, avocado, lychee and jujube, and some symptoms such as drying out of inflorescences in those species could be linked to infestation by this pest. Our results also show that *O. palus* is able to survive all year around on different hosts and could thus have a higher economic impact than originally suspected.

Pest management strategies will need to be adapted to the vast range of possible hosts and to successive generations of *O. palus* appearing over the course of the year. Sustainable management would benefit from the use of agroecological approaches (Deguine et al., 2009), such as planting flowering trap crops along the borders of mango orchards, these bands would then be the target of *O. palus* management.

Acknowledgments

The authors are extremely grateful to their colleague A. Matocq for species identification. We thank C. Simiand, M.L. Moutoussamy, T. Schmitt and C. Ajaguin Soleyen for technical assistance. We extend our gratitude to the Ministry of Agriculture, Food, Fisheries, Rural Affairs and Spatial Planning via the Trust Account for Agricultural and Rural Development (CASDAR), the Regional and General Council of Reunion Island.

Table IV-S1. Analyses of molecular variance (AMOVA) of the 34 populations of *Orthops palus* sampled in Reunion Island

Different analyses were performed with ARLEQUIN 3.5.1.3 (Excoffier et al., 2007). Several AMOVA were run for population comparison between sites, between host plants, east/west coast (separation lines in red in Fig. 1), sampling period and mango production area vs. area with no mango production (separation lines in blue in Fig. 1).

Percentage of the total genetic variance due to each level and the probability test after 10,000 permutations. Degrees of freedom (df), sums of square deviations (SSD).

The number of levels per factor is in parentheses.

The asterisks indicate the significance of the fixation index.

Groups		df	SSD	Percentage of variation	Variance component	Fixation indices
Host plant (6)	Among groups	5	34.741	0.10	0.00272	FCT: 0.00101
	Among sites within host plant species	44	251.194	1.61	0.0433	FSC: 0.01614*
	Among individuals within sites	1189	4274.599	35.50	0.95394	FIS: 0.36118*
	Within individuals	1239	2090.5	62.79	1.68725	FIT: 0.37213*
East/west region (2)	Among groups		8.967	0.03634	0.0011	FCT: 0.00036
	Among populations within groups		229.229	1.39017	0.04212	FSC: 0.01391*
	Among individuals within populations		4726.77	39.49394	1.19669	FIS: 0.40065*
	Within individuals		2090.5	59.07955	1.79015	FIT: 0.4092*
Sampling date (2)	Among groups		13.067	0.22745	0.0069	FCT: 0.00227*
	Among populations within groups		311.016	1.57112	0.04765	FSC: 0.01575*
	Among individuals within populations		4640.884	39.18152	1.18842	FIS: 0.39899*
	Within individuals		2090.5	59.01991	1.79015	FIT: 0.4098*
Mango production area (2)	Among groups			0.49126	0.01492	FCT: 0.00491*
	Among populations within groups			1.14881	0.03489	FSC: 0.01154*
	Among individuals within populations			39.40837	1.19669	FIS: 0.40065*
	Within individuals			58.95155	1.79015	FIT: 0.41048*
Cultivated/Wild (2)	Among groups			0.04799	0.00145	FCT: 0.00048
	Among populations within groups			1.65022	0.05	FSC: 0.01651*
	Among individuals within populations			39.22156	1.18842	FIS: 0.39899*
	Within individuals			59.08023	1.79015	FIT: 0.4092*

Table IV-S2. Pairwise F_{ST} values per site for *Orthops palus*Pairwise comparison for genetic differentiation between sites based on F_{ST} for *Orthops palus*.* $P < 0.05$ - Probabilities (with Bonferroni correction)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
1	0.00000																																	
2	0.04145*	0.00000																																
3	0.01058*	0.02166*	0.00000																															
4	0.04027*	0.01402*	0.01240*	0.00000																														
5	0.01287*	0.05549*	0.01760*	0.05472*	0.00000																													
6	0.01037	0.04980*	0.01980*	0.04051*	0.01712*	0.00000																												
7	0.02243*	-0.01243*	-0.00402	0.00288	0.02791*	0.03021*	0.00000																											
8	0.01293*	0.01952*	0.00004	0.01066*	0.01072*	0.00600*	0.00332	0.00000																										
9	0.01692*	0.00354	-0.00020	-0.00396	0.02660*	0.01438*	-0.00643	0.00277	0.00000																									
10	0.03092*	0.01919*	0.00430	-0.00026	0.03449*	0.02631*	-0.00014	0.01201*	-0.00440	0.00000																								
11	0.00746	0.02415*	-0.00030	0.02390*	0.01100*	0.01538*	0.00472	0.00489	0.00210	0.00061	0.00000																							
12	0.01950*	0.01837*	0.00173	0.00641	0.03792*	0.03091*	0.00565	0.01228*	0.00327	0.00189	0.01320*	0.00000																						
13	0.03079*	0.01429*	0.00497	0.00072	0.04539*	0.03641*	-0.00290	0.02189*	-0.00062	0.00200	0.00772*	0.00500	0.00000																					
14	0.03044*	0.04701*	0.02493*	0.04860*	0.02781*	0.03093*	0.02380*	0.00004*	0.02488*	0.03768*	0.03386*	0.03444*	0.04931*	0.00000																				
15	0.01830*	0.01542*	0.00265	0.00773*	0.03955*	0.02441*	0.00913*	0.00965*	0.00100	0.00470	0.01591*	-0.00309	0.00046*	0.02970*	0.00000																			
16	0.08089*	0.01639*	0.01622*	0.00673*	0.09191*	0.07532*	0.02458*	0.04264*	0.01435*	0.01815*	0.04968*	0.03282*	0.01238*	0.07941*	0.02689*	0.00000																		
17	0.02705*	0.00916	0.01334*	0.00656	0.02915*	0.01964*	0.00605	0.00167	0.00146	0.00732*	0.00797	0.01700*	0.01171*	0.02440*	0.00554*	0.01876*	0.00000																	
18	0.03196*	-0.00261	0.01450*	0.01012*	0.04316*	0.03484*	0.00441	0.01697*	0.00458	0.01561*	0.01722*	0.02062*	0.01119*	0.03894*	0.02079*	0.02734*	0.00853*	0.00000																
19	-0.00243	0.02639*	-0.00897	0.01862*	-0.00268	-0.00524	0.00197	-0.01111	-0.00880	0.00402	-0.00983	-0.00084	0.01033*	0.00388	-0.00044	0.03509*	0.00524	0.01631*	0.00000															
20	0.00697	0.01674*	0.00093	0.01909*	0.00031*	0.02054*	0.00342	0.00032*	0.00157	0.00796	-0.00008	0.01112*	0.01341*	0.02509*	0.01365*	0.04652*	0.00453	0.01458*	-0.01179	0.00000														
21	0.01899*	0.01621*	0.00982	0.01370*	0.02983*	0.02703*	0.00301	0.00781	-0.00110	0.01140	0.00671	0.01233*	0.01488*	0.02104*	0.01470*	0.03885*	0.01288*	0.00910*	0.00315	0.00023	0.00000													
22	0.01153*	0.00620	0.00199	0.00622	0.02643*	0.01645*	-0.00258	0.00045	-0.00940	0.00473	0.00443	0.00505*	0.00049*	0.01482*	0.00787*	0.02907*	-0.00603	0.00353	-0.00741	0.00025	-0.00258	0.00000												
23	0.01777*	0.02068*	0.00758*	0.02105*	0.02487*	0.01612*	0.00248	0.00146	0.00858*	0.01605*	0.00927*	0.01446*	0.02246*	0.01170*	0.01591*	0.04794*	0.00778	0.01515*	-0.00985	0.00941*	0.00580	0.00018	0.00000											
24	0.01020*	0.01227*	-0.00225	0.01065*	0.01501*	0.01079*	-0.00364	0.00330	-0.00491	0.00317	-0.00451	0.00941*	0.00792*	0.02120*	0.00076*	0.03175*	0.00201	0.00780*	-0.01572	-0.00400	0.00055	-0.00249	0.00385	0.00000										
25	0.03683*	0.02550*	0.01569*	0.02771*	0.03393*	0.02653*	0.01609*	0.01796*	0.01647	0.01838*	0.02079*	0.02288*	0.02984*	0.00838	0.01916*	0.05023*	0.00480	0.02894*	0.00480	0.02331*	0.01493	0.01855*	0.01506	0.01177	0.00000									
26	0.00712*	0.03408*	0.01285*	0.04340*	0.01478*	0.01044*	0.01908*	0.00366	0.02103*	0.03372*	0.00978*	0.02989*	0.04077*	0.00251	0.02741*	0.07975*	0.01462*	0.03082*	-0.00885	0.01087*	0.01726*	0.01251*	0.00337*	0.01942*	0.02476*	0.00000								
27	0.04581*	0.02618*	0.02877*	0.00294	0.07860*	0.06416*	0.01539*	0.01516*	0.00971*	0.00581	0.03946*	0.05168*	0.00467	0.00044*	0.02144*	0.00372	0.03364*	0.01900*	0.04476*	0.03040*	0.01050*	0.01177*	0.04064*	0.01749*	0.03040*	0.06917*	0.00000							
28	0.04031*	0.00589	0.02332*	0.01919*	0.04788*	0.03784*	0.01476*	0.02140*	0.01483*	0.02100*	0.02030*	0.02286*	0.02095*	0.04191*	0.02703*	0.03762*	0.01700*	0.03364*	-0.02241*	0.02585*	0.02580*	0.01076*	0.02544*	0.01456*	0.02230*	0.04107*	0.00000							
29	0.01432*	0.04044*	0.01990*	0.0271*	0.01072*	0.00946*	0.02711*	0.01308*	0.01350*	0.04081*	0.01001*	0.03949*	0.04446*	0.00429	0.03777*	0.09567*	0.02506*	0.03364*	-0.00050	0.01900*	0.01120*	0.01942*	0.01475*	0.01764*	0.02084*	0.00604*	0.07260*	0.03961*	0.00000					
30	0.01123*	0.03375*	0.01443	0.03877*	0.02464*	0.01842*	0.01789*	0.00923*	0.01832*	0.03004*	0.01941*	0.01289*	0.01880*	0.00835	0.02340*	0.07738*	0.01949*	0.03046*	-0.00440	0.01774*	0.01183	0.01113*	0.00036	0.01877*	0.01476	0.00233	0.04820*	0.03356*	0.01662*	0.00000				
31	0.01693*	0.02993*	0.00450	0.01463*	0.03490*	0.01445*	0.00541	0.00936*	0.00415	0.00720	0.01062*	0.00320	0.01558*	0.02310*	0.00089*	0.05147*	0.01694*	0.02154*	-0.00569	0.00089	0.01436*	0.00267	0.00032*	0.00509	0.02221*	0.01978*	0.03155*	0.02233*	0.02571*	0.01314*	0.00000			
32	0.00615	0.02043*	0.00212	0.01637*	0.01272*	0.00900*	-0.00046	-0.00001	-0.00691	0.01123*	-0.00206	0.00981	0.01372*	0.00724*	0.00183	-0.00242	-0.00748	-0.00092	-0.00430	0.01590*	0.00539*	0.03563*	0.01774*	0.00872*	0.00394	0.01114*	0.00000							
33	0.00691	0.03035*	0.01327*	0.02343*	0.02867*	0.01910*	0.00807	0.02236*	0.01823*	0.01274*	0.01488*	0.01199*	0.01373*	0.03776*	0.00017	0.03960*	0.02368*	0.02611*	-0.00461	0.00847	0.01044*	0.01058	-0.02076*	0.01278*	0.01299*	0.02571*	0.04075*	0.03943*	0.02442*	0.01794*	0.01594*	0.00702	0.00000	
34	0.00116	0.01658*	-0.00004	0.01907*	0.01900*	0.01212*	0.00935	0.00143	-0.00229	0.01180*	0.00222	0.00217	0.01490*	0.02041*	0.00392	0.04950*	0.00932*	0.01485*	-0.01339	0.00122	-0.00118	-0.00326	0.00431	0.00162	0.02553*	0.01094*	0.03130*	0.02268*	0.01636*	0.00943*	0.00517	-0.00460	0.00163	0.00000

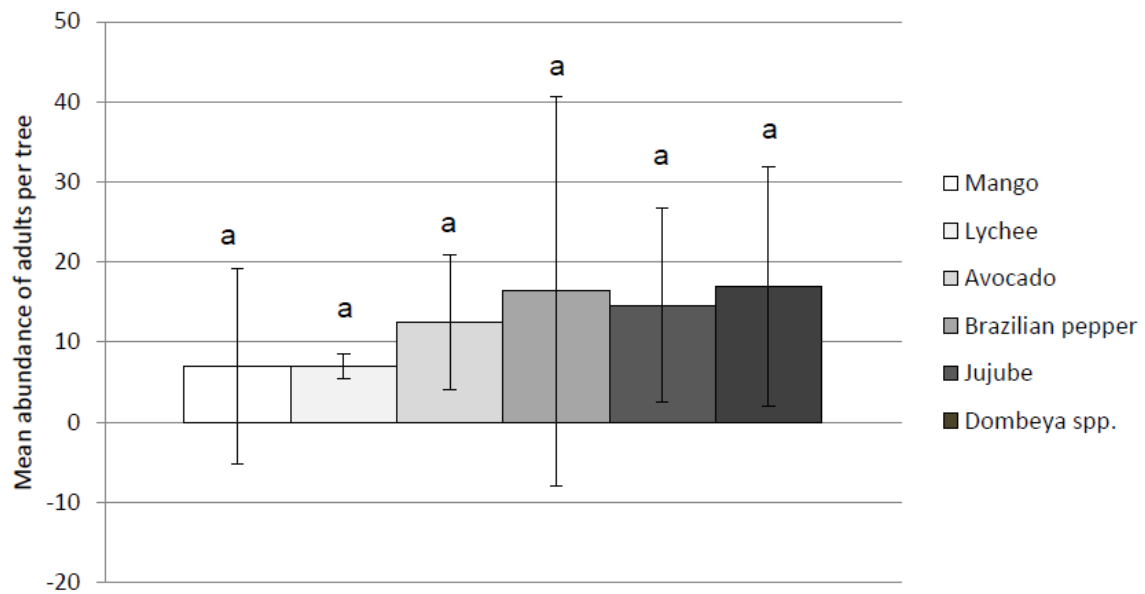


Figure IV-S1. Mean abundance of *Orthops palus* adults by tree for 6 host plants

Standard error is represented for each plant; Abundance of *O. palus* adults per tree per plant was compared using an analysis of variance (ANOVA) with a linear model (lm); Two different letters mean a significant difference in the LM test evaluated at 0.05 significance

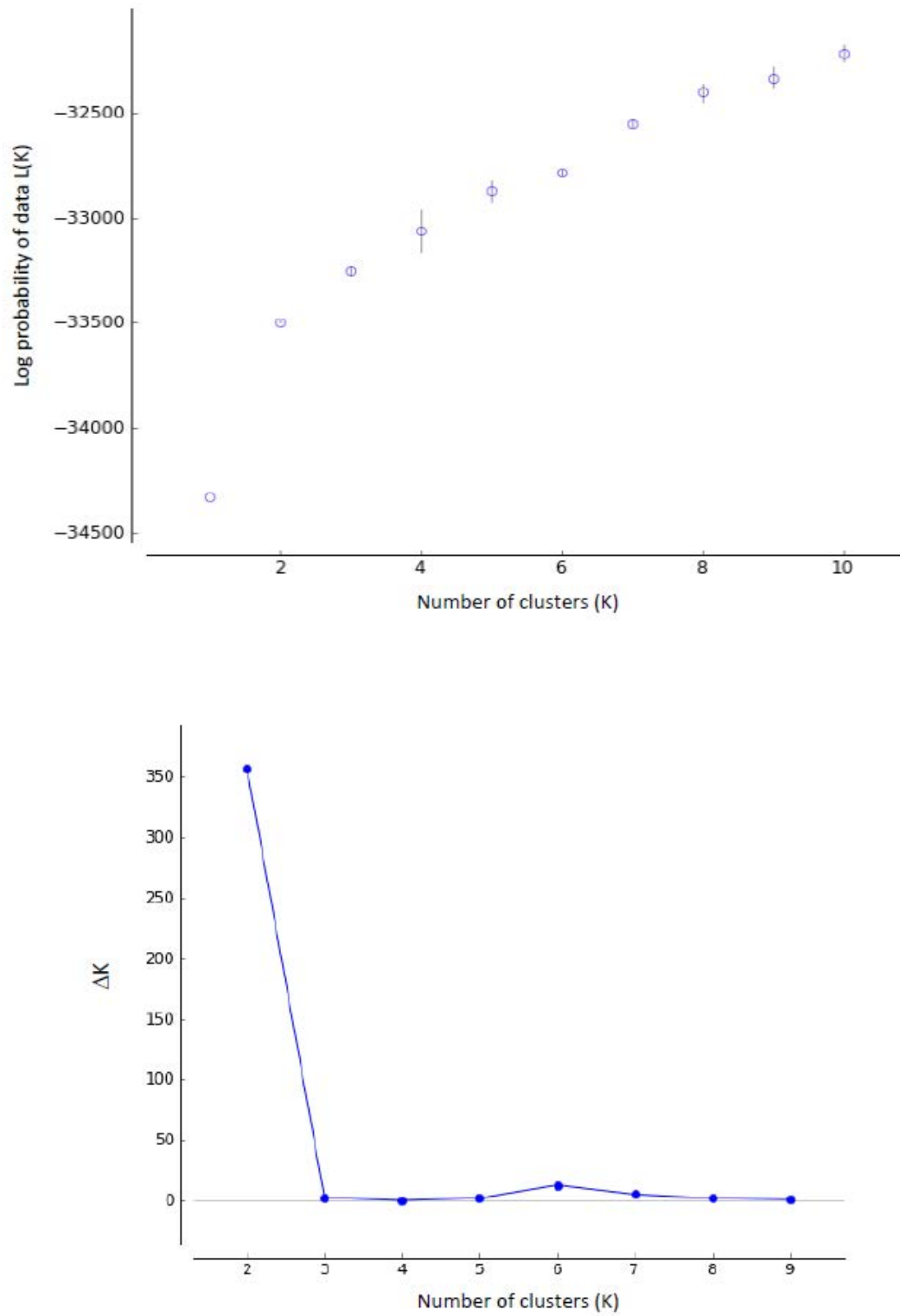


Figure IV-S2. Average likelihood of runs in structure and optimum number of clusters (delta K) according to Evanno *et al.* (2005)

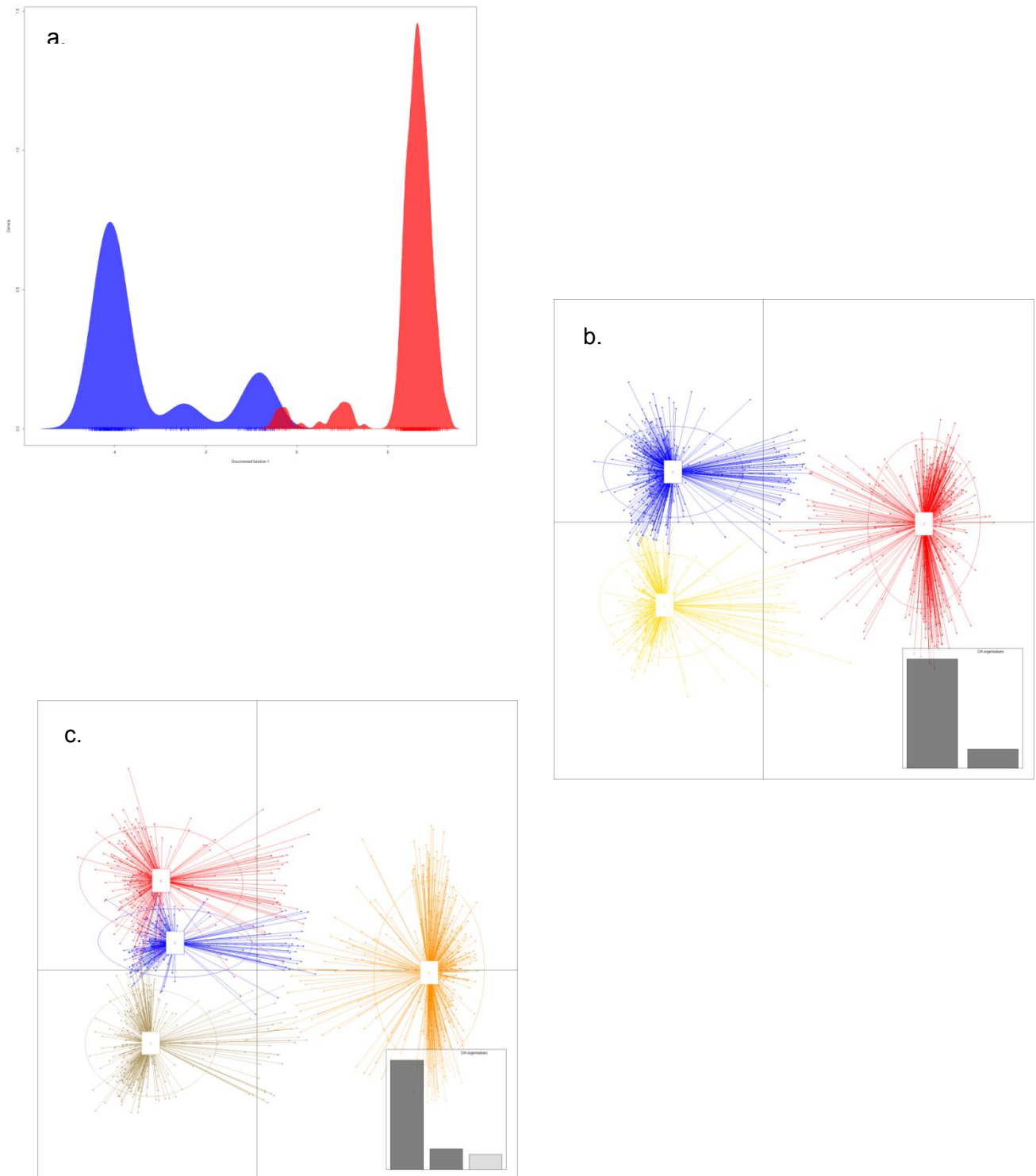


Figure IV-S3. Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) among individual genotypes of *Orthops palus* in Reunion Island

Topology of *Orthops palus* from different localities in Reunion Island obtained by principal component analysis (PCA) using microsatellite markers.

a. 2 populations ; b. 3 populations; c. 4 populations

The optimum a-score (0.5) was obtained for the optimum number of two principal components for the DAPC.

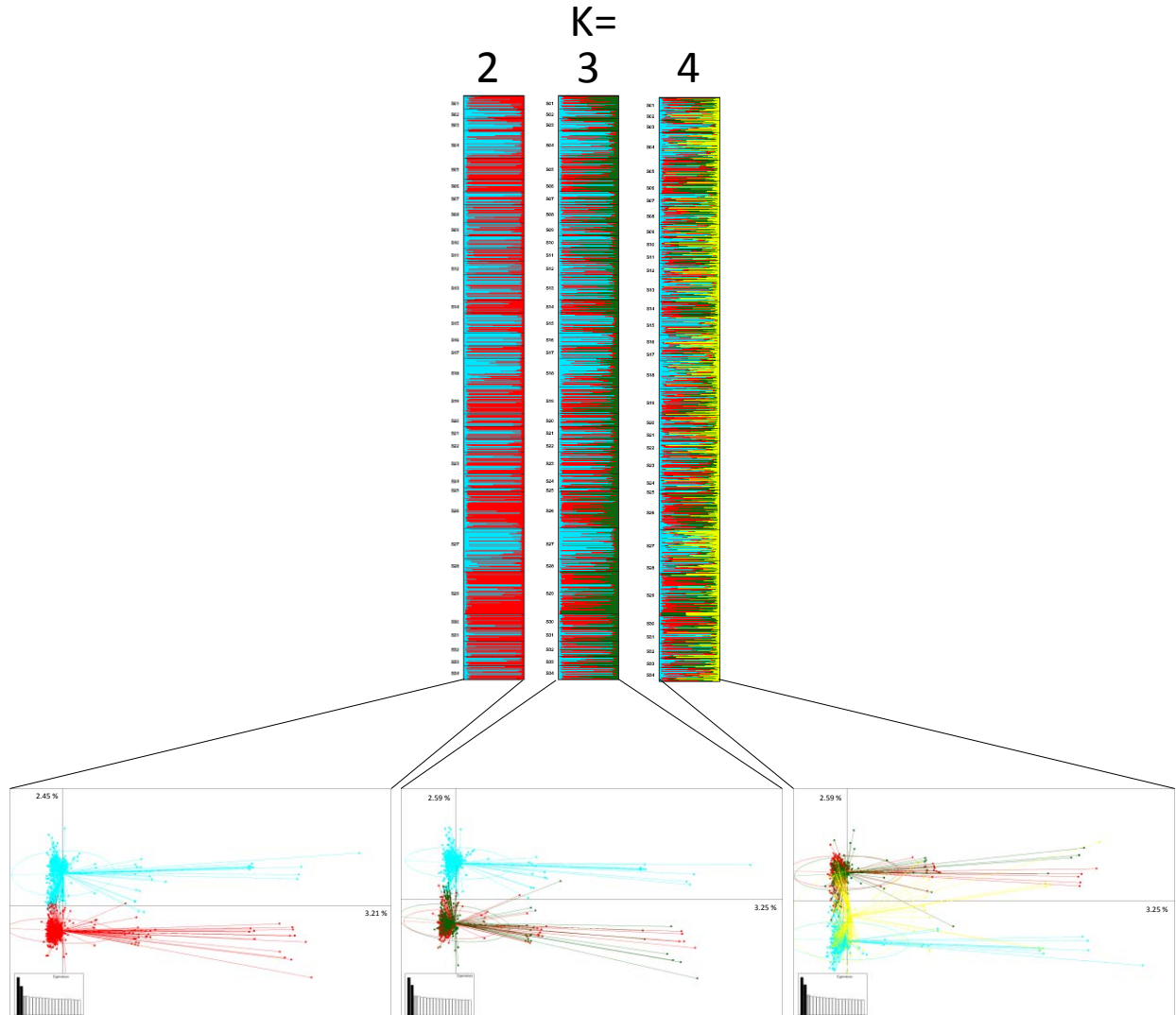


Figure IV-S4. Admixture proportions and Principal Component Analysis among genotypic clusters

Top: STRUCTURE admixture proportions of 1,366 specimens of *Orthops palus* assigned to two to four genotypic clusters ($K = 2-4$). Population names according to Table 1. Bottom: Principal component analyses (PCA) among individual genotypes. Confidence interval (by default at 68%) is indicated by the ellipses and inertia is shown on each axis. Genotypes assigned to different genotypic clusters ($K = 2-4$) are labelled.

References

- Amouroux, P., Normand, F., Delatte, H., Roques, A., Nibouche, S., 2014. Diapause incidence and duration in the pest mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Felt), on Reunion Island. Bull. Entomol. Res. 104, 661–670. doi:10.1017/S0007485314000480
- Amouroux, P., Normand, F., Nibouche, S., Delatte, H., 2013. Invasive mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Felt) (Diptera: Cecidomyiidae) in Reunion Island: ecological plasticity, permanent and structured populations. Biol. Invasions 15, 1677–1693. doi:10.1007/s10530-012-0400-0
- Atiama, M., Deguine, J.-P., Delatte, H., in press. Isolation and Characterization of Eleven polymorphic Microsatellite Markers developed for the mango bug, *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae). J. Insect Sci.
- Babin, R., Fenouillet, C., Legavre, T., Blondin, L., Calatayud, C., Risterucci, A.-M., Chapuis, M.-P., 2012. Isolation and Characterization of Twelve Polymorphic Microsatellite Loci for the Cocoa Mirid Bug *Sahlbergella singularis*. Int. J. Mol. Sci. 13, 4412–4417. doi:10.3390/ijms13044412
- Bale, J.S., Hayward, S.A.L., 2010. Insect overwintering in a changing climate. J. Exp. Biol. 213, 980–994. doi:10.1242/jeb.037911
- Barman, A.K., Sansone, C.G., Parajulee, M.N., Medina, R.F., 2013. Population Genetic Structure of *Pseudatomoscelis seriatus* (Hemiptera: Miridae) in the Cotton-Growing Regions of the United States. J. Econ. Entomol. 106, 2225–2233. doi:10.1603/EC12520
- Belkhir, K., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F., 1996. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier (France), Montpellier.
- Besansky, N.J., Lehmann, T., Fahey, G.T., Fontenille, D., Braack, L., Hawley, W.A., Collins, F.H., 1997. Patterns of Mitochondrial Variation within and between African Malaria Vectors, *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis*, Suggest Extensive Gene Flow. Genetics 147, 1817–1828.
- Brunner, P.C., Chatzivassiliou, E.K., Katis, N.I., Frey, J.E., 2004. Host-associated genetic differentiation in *Thrips tabaci* (Insecta: Thysanoptera), as determined from mtDNA sequence data. Heredity 93, 364–370. doi:10.1038/sj.hdy.6800512

- Burange, P.S., Roehrdanz, R.L., Boetel, M.A., 2012. Geographically Based Diversity in Mitochondrial DNA of North American *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 105, 917–929. doi:10.1603/AN11146
- Callen, D.F., Thompson, A.D., Shen, Y., Phillips, H.A., Richards, R.I., Mulley, J.C., Sutherland, G.R., 1993. Incidence and origin of “null” alleles in the (AC)_n microsatellite markers. *Am. J. Hum. Genet.* 52, 922–927.
- Caspi-Fluger, A., Inbar, M., Steinberg, S., Friedmann, Y., Freund, M., Mozes-Daube, N., Zchori-Fein, E., 2014. Characterization of the symbiont *Rickettsia* in the mirid bug *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Heteroptera: Miridae). *Bull. Entomol. Res.* 104, 681–688. doi:10.1017/S0007485314000492
- Cassis, G., Schuh, R.T., 2012. Systematics, Biodiversity, Biogeography, and Host Associations of the Miridae (Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha). *Annu. Rev. Entomol.* 57, 377–404. doi:10.1146/annurev-ento-121510-133533
- Chambre d’Agriculture de La Réunion, 2002. Fiche ravageurs - Punaise manguier.
- Chapuis, M.-P., Estoup, A., 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.* 24, 621–631.
- Chessel, D., Dufour, A.B., Thioulouse, J., others, 2004. The ade4 package-I-One-table methods. *R News* 4, 5–10.
- Dakin, E.E., Avise, J.C., 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93, 504–509. doi:10.1038/sj.hdy.6800545
- Deguine, J.P., Ferron, P., Russell, D., 2009. Crop protection : from agrochemistry to agroecology. Science Publishers, Enfield, Jersey, Plymouth.
- Dempster, A.P., Laird, N.M., Rubin, D.B., 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Methodol.* 1–38.
- Denlinger, D.L., 1986. Dormancy in Tropical Insects. *Annu. Rev. Entomol.* 31, 239–264. doi:10.1146/annurev.en.31.010186.001323
- Earl, D.A., vonHoldt, B.M., 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4, 359–361. doi:10.1007/s12686-011-9548-7
- Esquivel, J.F., Mowery, S.V., 2007. Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in Central Texas. *Environ. Entomol.* 36, 725–730. doi:10.1603/0046-225X(2007)36[725:HPOTTP]2.0.CO;2

- Etienne, J., Roura, A., 1974. Note sur l'entomofaune des manguiers à la Réunion, in: Rapport Annuel de l'IRAT. Institut de recherches en agronomie tropicales. Saint-Denis, La Réunion, pp. 89–92
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14, 2611–2620. doi:10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S., 2007. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinforma.* Online 1, 47–50.
- Eyles, A.C., 1999. Introduced Mirinae of New Zealand (Hemiptera: Miridae). *N. Z. J. Zool.* 26, 355–372.
- FAOSTAT, 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database [WWW Document]. URL http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E
- Fleischer, S.J., Gaylor, M.J., 1987. Seasonal Abundance of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) and Selected Predators in Early Season Uncultivated Hosts: Implications for Managing Movement into Cotton. *Environ. Entomol.* 16, 379–389. doi:10.1093/ee/16.2.379
- Gotoh, T., Noda, H., Ito, S., 2006. Cardinium symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. *Heredity* 98, 13–20. doi:10.1038/sj.hdy.6800881
- Haine, E.R., Martin, J., Cook, J.M., 2006. Deep mtDNA divergences indicate cryptic species in a fig-pollinating wasp. *BMC Evol. Biol.* 6, 83. doi:10.1186/1471-2148-6-83
- Hartfield, E.A., Harris, M.K., Medina, R.F., 2012. Population structure of the pecan nut casebearer *Acrobasis nuxvorella* throughout its geographical distribution. *Agric. For. Entomol.* 14, 119–125. doi:10.1111/j.1461-9563.2011.00538.x
- Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H., Hallwachs, W., 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 14812–14817. doi:10.1073/pnas.0406166101
- Henry, T.J., Lattin, J.D., 1987. Taxonomic status, biological attributes, and recommendations for future work on the genus *Lygus* (Heteroptera: Miridae), in: Hedlund, R.C.G.H.M. (Ed.), Economic Importance and Biological Control of *Lygus* and *Adelphocoris* in North America. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC.
- Hereward, J.P., Walter, G.H., DeBarro, P.J., Lowe, A.J., Riginos, C., 2013. Gene flow in the green mirid, *Creontiades dilutus* (Hemiptera: Miridae), across arid and agricultural

- environments with different host plant species. *Ecol. Evol.* 3, 807–821. doi:10.1002/ece3.510
- Insa, G., Rossolin, G., Vincenot, D., 2002. La Mangue - Dossier Technico-Economique, 2nd ed. Chambre d'agriculture de La Réunion, Saint-Pierre, La Réunion.
- Jacquard, C., Virgilio, M., David, P., Quilici, S., De Meyer, M., Delatte, H., 2013. Population structure of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, in Reunion Island. *Biol. Invasions* 15, 759–773. doi:10.1007/s10530-012-0324-8
- Jakobsson, M., Rosenberg, N.A., 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 23, 1801–1806. doi:10.1093/bioinformatics/btm233
- Jiggins, C.D., Naisbit, R.E., Coe, R.L., Mallet, J., 2001. Reproductive isolation caused by colour pattern mimicry. *Nature* 411, 302–305. doi:10.1038/35077075
- Jombart, T., 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24, 1403–1405. doi:10.1093/bioinformatics/btn129
- Jombart, T., Devillard, S., Balloux, F., 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet.* 11, 94. doi:10.1186/1471-2156-11-94
- Kikuchi, Y., Fukatsu, T., 2003. Diversity of *Wolbachia* Endosymbionts in Heteropteran Bugs. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 6082–6090. doi:10.1128/AEM.69.10.6082-6090.2003
- Kim, K.S., Sappington, T.W., 2006. Molecular genetic variation of boll weevil populations in North America estimated with microsatellites: Implications for patterns of dispersal. *Genetica* 127, 143–161. doi:10.1007/s10709-005-2673-z
- Kobayashi, T., Sakurai, T., Sakakibara, M., Watanabe, T., 2011. Multiple origins of outbreak populations of a native insect pest in an agro-ecosystem. *Bull. Entomol. Res.* 101, 313–324. doi:10.1017/S0007485310000490
- Laffin, R.D., Langor, D.W., Sperling, F. a. H., 2004. Population Structure and Gene Flow in the White Pine Weevil, *Pissodes strobi* (Coleoptera: Curculionidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97, 949–956. doi:10.1603/0013-8746(2004)097[0949:PSAGFI]2.0.CO;2
- Lavandero, B., Miranda, M., Ramírez, C. c., Fuentes-Contreras, E., 2009. Landscape composition modulates population genetic structure of *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) on *Malus domestica* Borkh in central Chile. *Bull. Entomol. Res.* 99, 97–105. doi:10.1017/S0007485308006196

- Liu, Y.-D., Yang, Z.-C., Wu, K.-M., 2006. Eight polymorphic microsatellite markers developed in the green leaf bug, *Lygus lucorum* Meyer-Dür (Hemiptera: Miridae): Primer note. Mol. Ecol. Notes 7, 29–31. doi:10.1111/j.1471-8286.2006.01478.x
- Lozier, J.D., Roderick, G.K., Mills, N.J., 2008. Evolutionarily significant units in natural enemies: Identifying regional populations of *Aphidius transcaspicus* (Hymenoptera: Braconidae) for use in biological control of mealy plum aphid. Biol. Control 46, 532–541. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.05.002
- Machtelinckx, T., Van Leeuwen, T., Van De Wiele, T., Boon, N., De Vos, W.H., Sanchez, J.-A., Nannini, M., Gheysen, G., De Clercq, P., 2012. Microbial community of predatory bugs of the genus *Macrolophus* (Hemiptera: Miridae). BMC Microbiol. 12, S9. doi:10.1186/1471-2180-12-S1-S9
- Machtelinckx, T., Van Leeuwen, T., Vanholme, B., Gehesquière, B., Dermauw, W., Vandekerkhove, B., Gheysen, G., De Clercq, P., 2009. Wolbachia induces strong cytoplasmic incompatibility in the predatory bug *Macrolophus pygmaeus*. Insect Mol. Biol. 18, 373–381. doi:10.1111/j.1365-2583.2009.00877.x
- Mallet, J.B., 2001. Gene flow, in: Insect Movement: Mechanisms and Consequences. I. P. Woinod, D. R. Reynolds, and C. D. Thoms, Oxon, United Kingdom, pp. 337–360.
- Medina, R.F., Rondon, S.I., Reyna, S.M., Dickey, A.M., 2010. Population Structure of *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) in the United States. Environ. Entomol. 39, 1037–1042. doi:10.1603/EN09286
- Meng, X.-F., Shi, M., Chen, X.-X., 2008. Population genetic structure of *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae): strong subdivision in China inferred from microsatellite markers and mtDNA gene sequences. Mol. Ecol. 17, 2880–2897. doi:10.1111/j.1365-294X.2008.03792.x
- Mitchell, S.E., Narang, S.K., Cockburn, A.F., Seawright, J.A., Goldenthal, M., 1992. Mitochondrial and ribosomal DNA variation among members of the *Anopheles quadrimaculatus* (Diptera: Culicidae) species complex. Genome Natl. Res. Counc. Can. Génome Cons. Natl. Rech. Can. 35, 939–950.
- NAADS, 2013. User guide in Mango Production. National Agricultural Advisory Services, Kampala, Uganda.
- Nei, M., 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York, USA.
- Normand, F., Michels, T., Lechaudel, M., Joas, J., Vincenot, D., Hoarau, I., Desmulier, X., Barc, G., 2011. Approche intégrée de la filière mangue à La Réunion. Innov. Agron. 17, 67–81.

- Paetkau, D., Strobeck, C., 1995. The molecular basis and evolutionary history of a microsatellite null allele in bears. *Mol. Ecol.* 4, 519–520. doi:10.1111/j.1365-294X.1995.tb00248.x
- Page, W.W., 1980. Occurrence of the grasshopper pest *Zonocerus variegatus* (L.) (Orthoptera: Pyrgomorphidae) in south-western Nigeria in relation to the wet and dry seasons. *Bull. Entomol. Res.* 70, 621–633. doi:10.1017/S0007485300007914
- Pan, H., Lu, Y., Wyckhuys, K.A.G., Wu, K., 2013. Preference of a Polyphagous Mirid Bug, *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) for Flowering Host Plants. *PLoS ONE* 8, e68980. doi:10.1371/journal.pone.0068980
- Panizzi, A.R., 1997. Wild Hosts of Pentatomids: Ecological Significance and Role in Their Pest Status on Crops. *Annu. Rev. Entomol.* 42, 99–122. doi:10.1146/annurev.ento.42.1.99
- Park, D.-S., Foottit, R., Maw, E., Hebert, P.D.N., 2011. Barcoding Bugs: DNA-Based Identification of the True Bugs (Insecta: Hemiptera: Heteroptera). *PLoS ONE* 6, e18749. doi:10.1371/journal.pone.0018749
- Pashley, D.P., 1986. Host-associated Genetic Differentiation in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a Sibling Species Complex? *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79, 898–904. doi:10.1093/aesa/79.6.898
- Perera, O.P., Gore, J., Snodgrass, G.L., Jackson, R.E., Allen, K.C., Abel, C.A., Luttrell, R.G., 2015. Temporal and Spatial Genetic Variability Among Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) Populations in a Small Geographic Area. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 108, 180–192. doi:10.1093/aesa/sau016
- Pompanon, F., Bonin, A., Bellemain, E., Taberlet, P., 2005. Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nat. Rev. Genet.* 6, 847–846. doi:10.1038/nrg1707
- Porretta, D., Canestrelli, D., Bellini, R., Celli, G., Urbanelli, S., 2007. Improving insect pest management through population genetic data: a case study of the mosquito *Ochlerotatus caspius* (Pallas). *J. Appl. Ecol.* 44, 682–691. doi:10.1111/j.1365-2664.2007.01301.x
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155, 945–959.
- Roderick, G.K., 1996. Geographic Structure of Insect Populations: Gene Flow, Phylogeography, and Their Uses. *Annu. Rev. Entomol.* 41, 325–352. doi:10.1146/annurev.en.41.010196.001545

- Rosenberg, N.A., 2004. distruct: a program for the graphical display of population structure. Mol. Ecol. Notes 4, 137–138. doi:10.1046/j.1471-8286.2003.00566.x
- Rossi, A.M., Brodbeck, B.V., Strong, D.R., 1996. Response of xylem-feeding leafhopper to host plant species and plant quality. J. Chem. Ecol. 22, 653–671.
- Roubik, D.W., Michener, C.D., 1980. The Seasonal Cycle and Nests of *Epicharis zonata*, a Bee Whose Cells are below the Wet-Season Water Table (Hymenoptera, Anthophoridae). Biotropica 12, 56–60. doi:10.2307/2387773
- Rousset, F., 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. Mol. Ecol. Resour. 8, 103–106.
- Salvato, P., Battisti, A., Concato, S., Masutti, L., Patarnello, T., Zane, L., 2002. Genetic differentiation in the winter pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa* — *wilkinsoni* complex), inferred by AFLP and mitochondrial DNA markers. Mol. Ecol. 11, 2435–2444. doi:10.1046/j.1365-294X.2002.01631.x
- Sanchez, J.A., Spina, M.L., Perera, O.P., 2012. Analysis of the population structure of *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) (Hemiptera: Miridae) in the Palaearctic region using microsatellite markers. Ecol. Evol. 2, 3145–3159. doi:10.1002/ece3.420
- Saulich, A.K., Musolin, D.L., 1996. Univoltinism and its regulation in some temperate true bugs (Heteroptera). Eur J Entomol 93, 507–518.
- Shrestha, R.B., 2011. Ontogenic Morphometry and Genetic Diversity of *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae). Texas Tech University, Texas, USA.
- Snodgrass, G.L., Scott, W.P., Smith, J.W., 1984. Host Plants and Seasonal Distribution of the Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) in the Delta of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. Environ. Entomol. 13, 110–116. doi:10.1093/ee/13.1.110
- Soto, S.I., Lehmann, T., Rowton, E.D., Vélez B, I.D., Porter, C.H., 2001. Speciation and population structure in the morphospecies *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) as derived from the mitochondrial ND4 gene. Mol. Phylogenet. Evol. 18, 84–93. doi:10.1006/mpev.2000.0863
- Soula, B., Menu, F., 2005. Extended life cycle in the chestnut weevil: prolonged or repeated diapause? Entomol. Exp. Appl. 115, 333–340. doi:10.1111/j.1570-7458.2005.00281.x
- South, D.B., 1991. *Lygus* bugs: a worldwide problem in conifer nurseries. Presented at the Proceedings of the first meeting of IUFRO Working Party S, pp. 07–09.
- Sweetman, H.L., 1958. The principles of biological control; interrelation of hosts and pests and utilization in regulation of animal and plant populations., The biological control of insects. W. C. Brown Co., Dubuque, Iowa.

- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Mol. Biol. Evol. 30, 2725–2729. doi:10.1093/molbev/mst197
- Tauber, C.A., Tauber, M.J., 1981. Insect Seasonal Cycles: Genetics and Evolution. Annu. Rev. Ecol. Syst. 12, 281–308. doi:10.1146/annurev.es.12.110181.001433
- Taylor, T.H.C., 1947. Some East African species of *Lygus*, with notes on their host plants. Bull. Entomol. Res. 38, 233–258.
- Thomas, Y., Bethenod, M.-T., Pelozuelo, L., Frérot, B., Bourguet, D., 2003. Genetic Isolation Between Two Sympatric Host-Plant Races of the European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis* Hubner I. Sex Pheromone, Moth Emergence Timing, and Parasitism. Evolution 57, 261–273. doi:10.1111/j.0014-3820.2003.tb00261.x
- Weir, B.S., Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. Evolution 38, 1358. doi:10.2307/2408641
- Wheeler, A.G.J., 2001. Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Wheeler, A.G.J., 2000. Plant Bugs (Miridae) as Plant Pests, in: Heteroptera of Economic Importance. CRC Press, pp. 36–83.
- White, J.A., Kelly, S.E., Perlman, S.J., Hunter, M.S., 2009. Cytoplasmic incompatibility in the parasitic wasp *Encarsia inaron*: disentangling the roles of *Cardinium* and *Wolbachia* symbionts. Heredity 102, 483–489. doi:10.1038/hdy.2009.5
- Womack, C.L., Schuster, M.F., 1987. Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in the Northern Blackland Prairies of Texas. Environ. Entomol. 16, 1266–1272. doi:10.1093/ee/16.6.1266
- Young, O.P., 1986. Host Plants of the Tarnished Plant Bug, *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). Ann. Entomol. Soc. Am. 79, 747–762.
- Zchori-Fein, E., Bourtzis, K., 2011. Manipulative tenants: bacteria associated with arthropods, CRC press. ed. Einat Zchori-Fein, Kostas Bourtzis, London, U.K.
- Zepeda-Paulo, F.A., Simon, J.-C., Ramírez, C.C., Fuentes-Contreras, E., Margaritopoulos, J.T., Wilson, A.C.C., Sorenson, C.E., Briones, L.M., Azevedo, R., Ohashi, D.V., Lacroix, C., Glais, L., Figueroa, C.C., 2010. The invasion route for an insect pest species: the tobacco aphid in the New World. Mol. Ecol. 19, 4738–4752. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04857.x

Article 3: First description, genetic diversity and structuring of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae) in the south-west Indian Ocean islands

Morguen Atiama^{1*}, Jean-Philippe Deguine¹, Preaduth Sookar², Shradhanand Permalloo², Hélène Delatte¹

¹ CIRAD, UMR PVBMT, 7 chemin de l'IRAT 97410 Saint-Pierre, Reunion Island, France

² Entomology Division, Agricultural Services, Ministry of Agro Industry and Food Security, Le Réduit, Republic of Mauritius

* corresponding author : morguen.atiama@cirad.fr

Abstract

A better understanding of the introduction and distribution patterns of pests is indispensable for regional pest management strategies. A recent study revealed the presence on Reunion Island of two genetically different populations of the most important mango pest, *Orthops palus*, which originated from East Africa. But no abiotic and biotic factors were found to explain these structured populations. No investigations have been conducted on other islands in the south-west Indian Ocean to look for this pest, but its presence was strongly suspected. The aim of the present study was to investigate the presence of *O. palus* in the area and to characterize their genetic diversity (nuclear and mitochondrial) to better understand population flows. Extensive sampling was conducted on host plants of *O. palus* in Mauritius (14 sites) together with less extensive sampling in Mayotte and Grande Comore. Microsatellites markers previously developed for *O. palus* and partial mtCOI sequences were used to assess genetic diversity. The presence of *O. palus* was confirmed on all islands where sampling was conducted (Mauritius, Mayotte and Grande Comore). Genetic diversity analysis of nuclear DNA confirmed the existence of two genetic clusters of Reunion Island and revealed the presence of a different cluster in Mauritius. Nuclear DNA analysis also revealed the exchange of individuals between Mauritius and Reunion Island. Analysis of mitochondrial DNA diversity showed that seven haplotypes are present in the area, of which three are shared between islands, and four are private. Taken together, these results show that exchanges have occurred and continue to occur between islands, but do not explain the structured populations found. The stepping stone colonization hypothesis is then discussed.

Keywords: population genetic study, mtCOI, SSR markers, archipelagos, ecology.

Introduction

The geographic structure of populations is a fundamental component of ecology and evolution that combines demographic and genetic processes, including gene flow and migration, genetic drift, selection, and population extinction. Recent advances in molecular biology and theory have revolutionized the field and have not only extended the availability of data but also facilitated the accessibility and interpretation of existing data. These new techniques allow analysis of genetic similarity among populations to be combined with phylogeography and the distribution of genotypes within and among populations relative to the history of those genotypes (Roderick, 1996).

Miridae (Hemiptera: Heteroptera) are one of the most species-rich families of insects, and approximately 11,000 species have been described to date (Cassis and Schuh, 2012). The majority of plant bugs are phytophagous, and many are pests of economically important crops including alfalfa, apple, cocoa, cotton, sorghum, and tea (Wheeler, 2001). However, almost no studies have been conducted on the plant bug *Orthops palus*, even though it is a pest on mango in south-eastern African region (first described in Uganda in 1947 (Taylor, 1947)), provoking yield damages. Losses are the result of damage caused by both the larvae and adults of *O. palus* which prick mango inflorescences and suck their cell content of (Atiama et al., in press; Insa et al., 2002). The inflorescences desiccate and small flowers and ovaries fall off. Attacks are often rapid and lack of constant monitoring of population levels during flowering can be catastrophic.

Mango is the fifth most important fruit crop in the world (FAOSTAT, 2015) and its cultivation is threatened by this bug on Reunion Island, a French island situated in the southwestern Indian Ocean where mango is the fourth most important fruit produced. *O. palus* is one of the most important mango pests on the island and was first reported in 1974 (Etienne and Roura, 1974). Losses can reach 100% in mango orchards (Insa et al., 2002; Normand et al., 2011).

The geographic distribution of the species is poorly understood and very few studies had been conducted on the bug on the different islands of the area, either on their presence, and or on

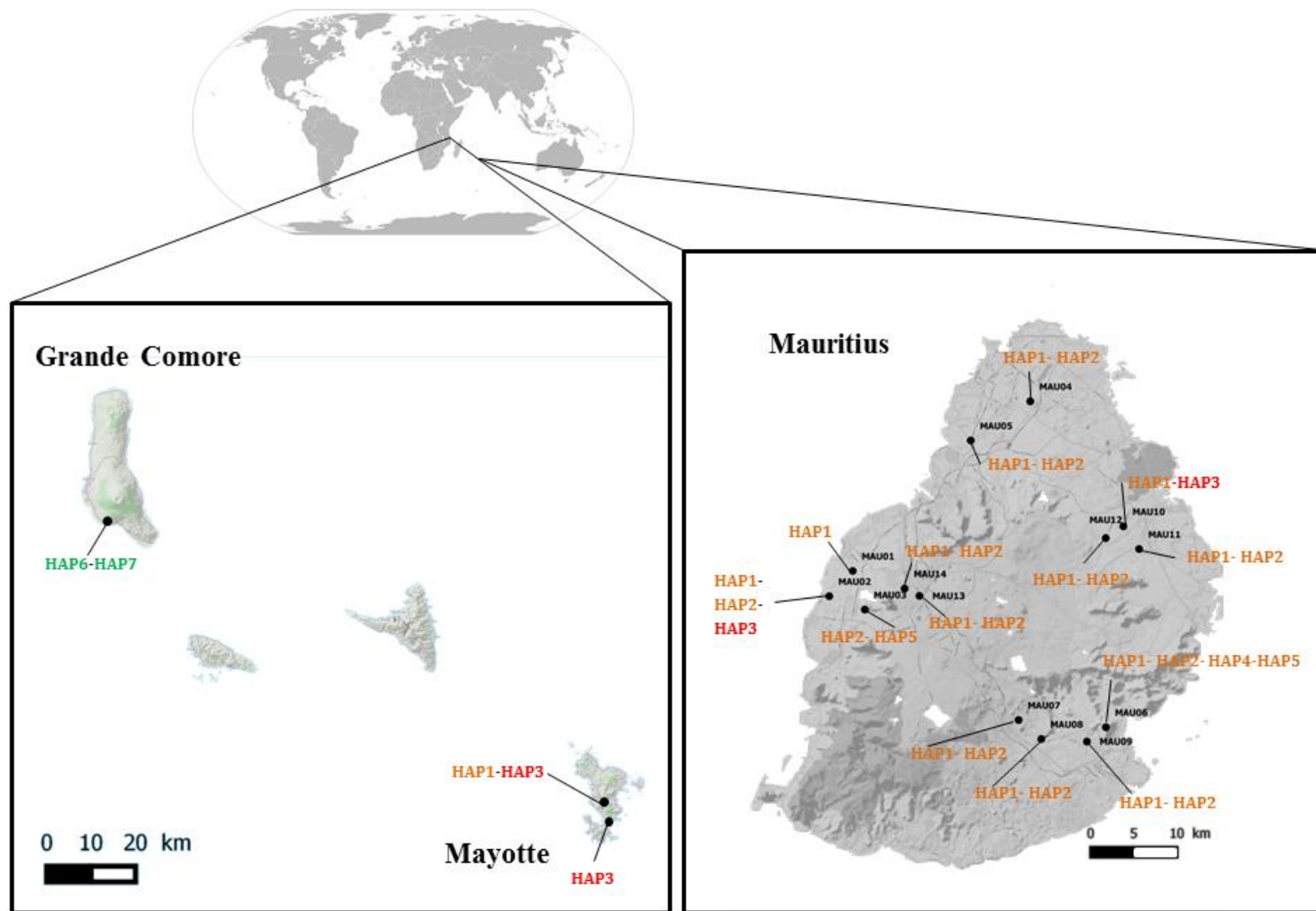


Figure IV-3. Map of sampling location of *Orthops palus* in islands in the south-western Indian Ocean and haplotype distribution

their genetic diversity. Polymorphic microsatellite markers were developed in recent studies (Atiama et al., in press) and a study of the genetic diversity of populations was conducted (Atiama et al., submitted-a) in addition to bioecological studies, both on Reunion island (Atiama and Deguine, submitted). The aim of the present study was to evaluate the presence of *O. palus* in other islands in the of south-western Indian Ocean islands (Mauritius, Mayotte and Grande Comore) and to characterize its nuclear and mitochondrial diversity in the islands where *O. palus* was found to be present.

Material and Methods

Sample sites

Sampling was conducted on and adults of *O. palus* were collected in Mauritius, Mayotte and Grande Comore. More important sampling campaigns were conducted in Mauritius (1865 km²) and samples already described in a recent study by our team (Atiama et al., submitted-a) were used to infer population interactions between the islands in the area.

Sample collection

Sampling on Reunion Island is described in detail in (Atiama et al., submitted-a) and summarized in supplementary data (Table IV-S3). Adults of *O. palus* were collected at 14 locations (n= 544 specimens) in Mauritius (Figure IV-3; Table IV-7). Bugs on flowers or foliage were sampled with D-Vac sampling device (a modified foliage vacuum device SH 56; Stihl, Dieburg, Germany). In each site and for each plant species, four 40-second aspirations were made on several panicles of flowers and foliage on each of the between one and 34 trees sampled at each site. Samples were stored according to the organ of the tree on which they were collected. Three host-plants (Atiama and Deguine, submitted), with different status were sampled: *Mangifera indica* L. (mango) (exotic and cultivated), *Litchi chinensis* (Sonnerat, 1782) (lychee) (exotic and cultivated), *Persea Americana* L. (avocado) (exotic and cultivated). Sampling campaigns were conducted in September 2013. This insect is mainly known for its presence on flowers, but sampling was also conducted on foliage to be sure not to miss any individuals.

Table IV-7. Information on *Orthops palus* host plants and sites in Mauritius, Mayotte (Coconi and Malamani) and Grande Comore (Mjdoyesi)
Altitude in meters; * indicated sample from agricultural sites; all samples in Mauritius were collected in September 2013.

Location	Site	Altitude	Number of trees sampled	Number of samples collected	Mean number of adult <i>O. palus</i> per tree	Number of samples genotyped	Number of samples analysed	Number of females	Number of males	Host plant	Accession number	
Roche Brune	MAU01	161	19	28	1.47	24	22	8	14	mango	KU374905-KU374900	
Medine	MAU02	96	31	51	1.65	30	26	14	12	mango*	KU374901-KU374923-KU374904	
Pierrefonds Maurice	MAU03	261	9	97	10.78	30	28	13	15	lychee	KU374903-KU374909-KU374906	
Labourdonnais	MAU04	82	34	145	4.26	30	29	14	15	mango*	KU374907-KU374915-KU374924-KU374902-KU374920	
			5	16	3.20	16	12	7	5	avocado*	KU374918-KU374910	
Arsenal	MAU05	70	8	5	0.63	5	4	1	3	mango	-	
			4	21	5.25	20	13	8	5	lychee	KU374922-KU374917	
Mahebourg	MAU06	21	7	87	12.43	30	29	15	14	mango	KU374913-KU374911-KU374919-KU374921-KU374914	
Rose Belle	MAU07	263	7	17	2.43	17	15	4	11	mango	KU374916-KU374930	
			7	29	4.14	29	14	7	7	lychee	KU374928	
			4	113	28.25	30	14	7	7	avocado	KU374932	
Mare d'Albert	MAU08	173	5	94	18.80	30	27	13	14	lychee	KU374927-KU374931-KU374929	
Plaisance	MAU09	115	11	194	17.64	30	18	9	9	mango*	KU374926-KU374934-KU374936	
Flacq Boulet Rouge	MAU10	63	6	36	6.00	30	21	9	12	mango	KU374938-KU374912-KU374935	
			1	3	3.00	3	1	1	0	lychee	-	
Flacq Ecroignard	MAU11	57	5	47	9.40	28	26	10	16	mango	KU374933-KU374937-KU374925-KU374944	
			4	41	10.25	29	28	14	14	lychee	KU374948-KU374947-KU374943-KU374941	
Le Queen	MAU12	136	3	7	2.33	7	6	4	2	mango	-	
			1	12	12.00	12	11	7	4	lychee	KU374940	
			2	81	40.50	30	25	14	11	avocado	KU374946-KU374942	
Closel Phoenix	MAU13	381	4	4	1.00	4	4	3	1	mango	KU974945	
			3	46	15.33	30	28	15	13	lychee	KU374951-KU374954-KU374958-KU374953-KU374939	
			4	33	8.25	29	27	14	13	avocado	KU374950-KU374960-KU374956-KU374952-KU374955	
Quatres bornes	MAU14	335	3	9	3.00	9	9	5	4	mango	KU374959	
			2	4	2.00	4	4	1	3	lychee	-	
			1	8	8.00	8	8	5	3	avocado	KU374949	
Total						544	449	222	227			
Coconi	MAY01										mango	KU374964-KU374965-KU374966
Malamani	MAY02										mango	KU374967-KU374968
Mjdoyesi	COM01										mango	KU374961-KU374962-KU374963

Adults were identified based on morphological characters according to Taylor (1947) and Atiama et al. (in press). Next, *O. palus* adults were sorted by sex, counted, and stored at -20 °C in 96 % ethanol. Molecular techniques (amplification and sequencing of mitochondrial DNA (mtDNA) were also used to confirm the identification, by sequencing part of the Cytochrome oxidase subunit I (COI)) (barcoding region) on 13% of individuals on the three species of host plants sampled (see below).

To detect the presence of *O. palus* in other islands of the south-western Indian Ocean and to access mtDNA diversity, sampling was also conducted in Mayotte, Comoros Island (Grande Comores) using the same sampling technique. The insects were sampled on mango, lychee and avocado but in fewer sites (maximum 6 sites) (Table IV-7).

DNA extraction

DNA was extracted according to the method described in (Atiama et al., submitted-a).

Mitochondrial DNA sequencing and analysis

The COI fragment of 59 individuals from populations in Mauritius, five individuals from Mayotte, and three individuals from Comoros were sequenced using the primers LepF2_t1-3' and LepR1 which amplified a 658-bp fragment of the mitochondrial COI gene (Park et al., 2011).

PCR amplification was performed as described in (Atiama et al., submitted-a). The mtDNA fragments were sent to Macrogen © for bi-directional sequencing on an ABI3730XL and then aligned, edited, and trimmed using MEGA 6 (Tamura et al., 2013).

These mtDNA sequences were blasted on GenBank to check for previously sequenced species. A phylogenetic tree was constructed with FastTree 2.1.7 software using a generalized time-reversible model (Price et al., 2009).

PCR Amplification and microsatellite genotyping

Each individual was genotyped at eight polymorphic microsatellite loci (CIROP14, CIROP18, CIROP23, CIROP25, CIROP10, CIROP21, CIROP32, CIROP24) split into two multiplex PCR reactions (Atiama et al. in press) (Table IV-S4). These microsatellite loci gave the best

result (small percentage of missing data and null alleles) in an analysis of populations in Reunion Island (Atiama et al., submitted-a) .

Amplification reaction was performed in a total volume of 15 μL , containing approximately 1 μL of DNA at 5 ng/ μL , 0.1 μL of each primer at 20 pmol/ μL and 7.5 μL of Master Mix Type-it 2X Qiagen©. PCR amplifications were executed with an initial denaturation step (5 min at 95 °C), followed by 35 cycles of 30 s at 95 °C, 20 s at 55 °C and 45 s at 72 °C, and a final elongation step of 10 min at 72 °C. One control consisting in the DNA of one chosen bug was included in all the different PCR-plates.

One microliter of PCR products (1:20 dilution) with 10.9 μL formamide and 0.1 μL of the dye-labelled size standard (GeneScan™ 500 LIZ® Size Standard) were analyzed by capillary electrophoresis (ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Microsatellite alleles were scored and checked manually with GENEMAPPER v4 software (Applied Biosystems).

Microsatellite/Genetic analyses

Between 21 and 86 individuals were genotyped per site. Only individuals with less than 40% of missing data were included in the analysis. GENETIX 4.05.2 (Belkhir et al., 1996) was used to estimate microsatellite diversity within populations in terms of mean numbers of alleles (N_a), alleles richness, observed (H_{obs}) and expected heterozygosity (H_{exp}) and unbiased expected heterozygosity (H_{nb}) (Nei, 1987). Multilocus fixation indexes (F_{is}) were estimated according to (Weir and Cockerham, 1984). The frequency of null alleles per population was calculated with GENEPOP 4.3 (Rousset, 2008) and per locus with FREENA 1.0 (Chapuis and Estoup, 2007) according to Dempster *et al.* (1977). Genotypic linkage disequilibrium and deviations from Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) were evaluated using the two-tailed Fisher’s exact test and the composite linkage disequilibrium test implemented in GENEPOP 4.3 (Rousset, 2008). The significance of tests was assessed with Markov-chain randomizations based on 1,000 dememorizations, 100 batches, and 5,000 iterations per batch. Inter-population genetic structure was investigated by calculating pairwise F_{ST} values (Weir and Cockerham, 1984) with significance level tested by 1,000 permutations of multilocus

individual genotypes as implemented by ARLEQUIN 3.5.1.3 (Excoffier et al., 2007). This software was also used to perform an analysis of molecular variance (AMOVA) to calculate the proportion of genetic variance that can be attributed to between-population and within-population comparisons (Excoffier et al., 2007). The significance of the variance components was tested with 10,000 permutations. Two factors were tested: host plant and cultivated/ wild plants.

The population structure of the dataset was assessed using a Bayesian approach with the software STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). The program was run 10 times for each K value using the admixture model with a burn-in period of 100,000 iterations and then 1,000,000 iterations of a Markov chain Monte Carlo from K equals 1-20. The *ad hoc* statistic ΔK , based on the rate of change in the log probability between successive K values, was used to detect the optimum number of clusters (K) (Evanno et al., 2005) using STRUCTURE HARVESTER (Earl and vonHoldt, 2012). Principal component analysis (PCA) based on Euclidean distances among multilocus genotypes was implemented to summarize the genetic variability of the microsatellite data set using the R packages *adeigenet 1.3-4* and *ade4* (Chessel et al., 2004; Jombart, 2008). PCA was used to ordinate specimens as a function of their STRUCTURE cluster assignment. Posterior estimates of cluster memberships were summarized using CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson and Rosenberg, 2007) and visualized through DISTRUCT 1.1 (Rosenberg, 2004).

An alternative clustering analysis with a discriminant analysis of principal component analysis (DAPC) was used to check the structure of the dataset using the R package *adeigenet 1.4*. The DAPC analysis, which is not based on any population genetics model, supports deviations from HWE, null alleles, and linkage disequilibrium (Jombart et al., 2010). The best supported number of clusters using the Bayesian information criterion (BIC) for the values of K was selected using the *find.clusters* function. The a-score optimum was also used to determine the optimal number of principal components to maximize power of discrimination while also minimizing the risk of over-fitting.

Table IV-8. Genetic variability of *Orthops palus* populations per site in Mauritius

Site, for codes see Table 1; N, number of individuals analyzed per population; N_a, mean number of alleles per site; H_{obs}, observed heterozygosity; H_{exp}, expected heterozygosity; H_{nb}, unbiased expected heterozygosity (Nei, 1987) F_{IS}, (Weir and Cockerham, 1984) estimate of Wright's (1951) fixation index; All population deviate from Hardy-Weinberg equilibrium (experiment-wise P < 0.05 after correction for false discovery rate), A_r : Allelic richness per site ; A_n: mean null allele frequency based on the study described by Dempster et al. (1977).

Site	N	N _a	H _{obs}	H _{exp}	H _{nb}	F _{IS}	A _r	A _n
MAU01	22	6.75	0.368	0.598	0.613	0.461	5.08	0.142
MAU02	26	7.25	0.392	0.606	0.619	0.447	5.00	0.139
MAU03	28	8.00	0.312	0.608	0.620	0.577	5.22	0.195
MAU04	41	9.13	0.360	0.628	0.636	0.479	5.36	0.168
MAU05	17	7.25	0.377	0.583	0.602	0.368	5.29	0.118
MAU06	29	8.13	0.344	0.628	0.639	0.514	5.24	0.174
MAU07	43	8.75	0.364	0.626	0.635	0.450	5.28	0.163
MAU08	27	8.13	0.364	0.606	0.619	0.407	5.28	0.147
MAU09	18	5.63	0.321	0.505	0.523	0.468	4.45	0.143
MAU10	22	6.50	0.357	0.577	0.592	0.451	4.82	0.152
MAU11	54	9.38	0.390	0.625	0.631	0.434	5.19	0.147
MAU12	42	8.63	0.338	0.599	0.607	0.501	5.03	0.174
MAU13	59	10.13	0.344	0.623	0.629	0.495	5.24	0.173
MAU14	21	7.38	0.346	0.630	0.646	0.519	5.42	0.186
Mean		7.93	0.355	0.603	0.615	0.469	5.14	0.159
Min		5.63	0.312	0.505	0.523	0.368	4.45	0.118
Max		10.13	0.392	0.630	0.646	0.577	5.42	0.195

Results

Presence on islands in the south-western Indian Ocean and host plant association

Orthops palus was found in Mauritius, Mayotte, and in Grande Comore (Figure IV-3). Abundances of adults *O. palus* per tree and per site were ranged from 1.47 to 18.80 (Table IV-7). The highest abundance was recorded (17.64 adults per tree) in a site named “Plaisance” which corresponds to a mango orchard located right in front of Mauritius airport. Mean abundances per host plant and per tree ranged from 5.19 (mango) to 17.64 adults per tree (avocado). Abundances of *O. palus* adults did not differ significantly among the three host plants sampled ($\alpha=0.01$; $F = 3.9135$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.03445$).

Nuclear DNA

Genetic diversity

A total of 449 individuals out of 544 were successfully genotyped with a maximum of 40% of missing data in the Mauritius dataset. Between 21 and 76 individuals were genotyped per site (Table IV-7).

All loci were polymorphic and the number of alleles per locus ranged from five (CIROP21) to 24 (CIROP10) (Table IV-8). The mean number of alleles (N_a) was between 6.50 and 10.13 (average: 7.93 alleles per locus per population) and allelic richness ranged from 4.45 to 5.42 (average: 5.14 alleles per locus per population) (Table IV-8). The H_{exp} ranged from 0.505 to 0.630. Multilocus values of F_{IS} per site ranged from 0.368 (MAU05) to 0.577 (MAU03). All F_{IS} values were significant and no populations were under the HWE. Very little significant linkage disequilibrium was observed after Bonferroni correction (59 of 952 combinations (6.20%)). Mean allelic richness in Mauritius (5.14) was lower than in Reunion Island (5.884). The mean number of alleles per site showed the same tendency (Mauritius $N_a=7.93$; Reunion Island $N_a=9.02$). The number of null alleles per site ranged from 0.118 to 0.195, with an average value of 0.159. The number of null alleles per locus ranged from 5.8 to 25.5.

Population structure in Mauritius and Reunion Island

The STRUCTURE analysis showed that considered alone, populations in Mauritius were not structured (Figure IV-S5), using the method of Evanno *et al.* (2005).

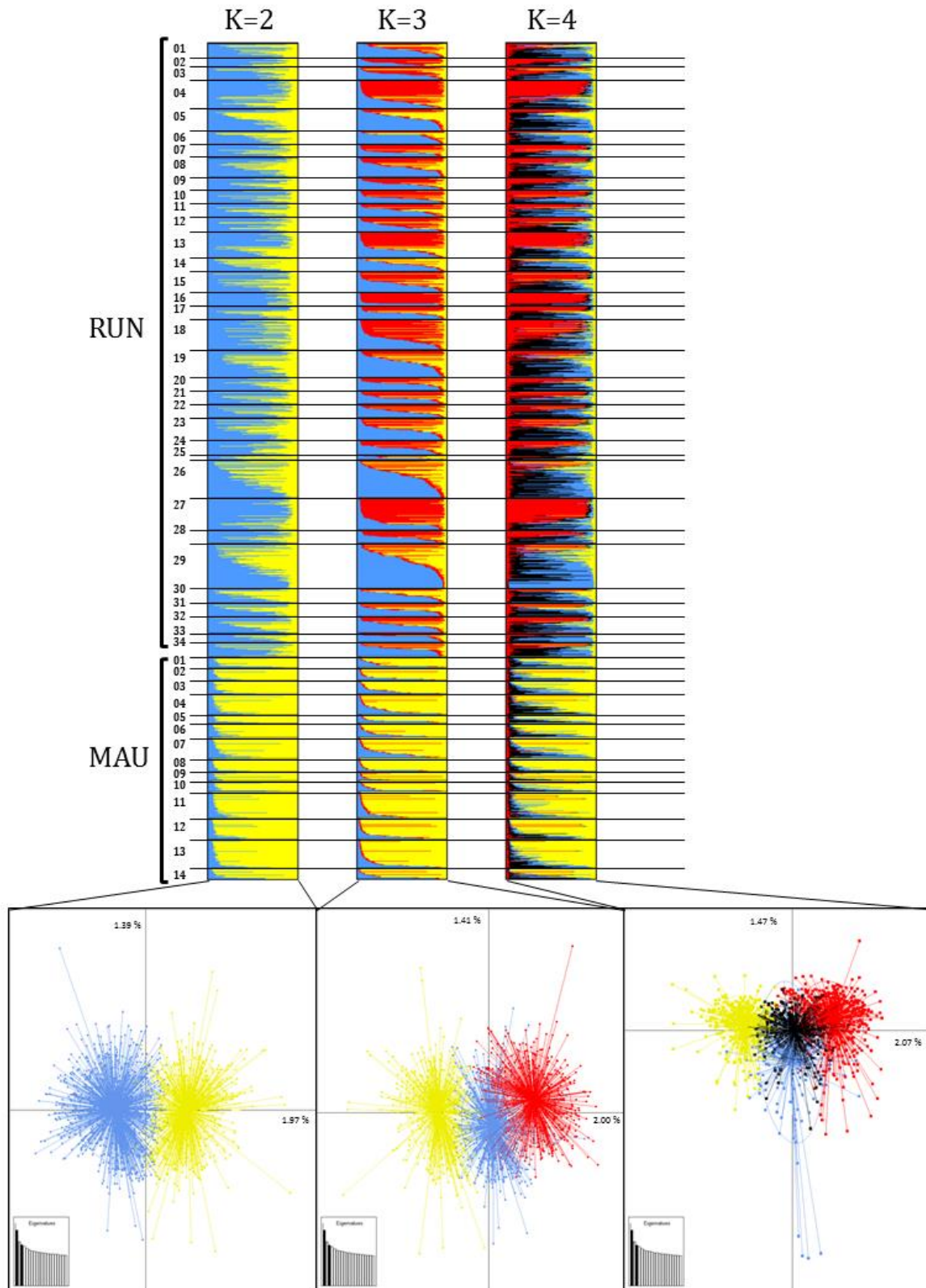


Figure IV-4. Admixture proportions and PCA among genotypic clusters

Top: STRUCTURE admixture proportions of 1,688 specimens of *Orthops palus* assigned to two to four genotypic clusters ($K = 2-4$). For population names see Table 1. Bottom: Principal component analyses (PCA) of Euclidean distances among individual genotypes. Inertia is indicated on each axis. Genotypes assigned to different genotypic clusters ($K = 2-4$) are labelled.

However, a global analysis of the populations in Reunion and Mauritius Islands revealed a structure with three separate genetic clusters: two structured populations in Reunion Island (cluster 1 in blue, cluster 2 in red) and one population in Mauritius (cluster 3 in yellow). With a posterior probability (PP) threshold of 50%, in Reunion Island samples, 134 individuals out of 1,239 (10.82%) were assigned to the cluster 3 which is from Mauritius (including 58 individuals with a $PP \geq 80\%$). Furthermore, with a threshold of 50%, in Mauritius, 54 individuals out of the 449 (12.25%) were assigned to cluster 1 (38) and to cluster 2 (17), the two clusters in Reunion Island. Twenty two of these individuals were assigned with a $PP \geq 80\%$ (Figure IV-4).

Individuals with intermediate assignments between the two Reunion Island clusters and the Mauritius cluster (PP ranged from 30 to 70%) were present on Reunion island (116 individuals out of 1,239; 9.36%) and in Mauritius (41 individuals out of the 449; 9.13%) (Figure IV-4).

Results of AMOVA showed that populations in Mauritius were not structured according to their host plant or according to cultivated or wild plants (data not shown). The AMOVA between populations of Mauritius and Reunion Island showed significant differences between populations on the two islands ($F_{CT}=0.05211$, 5.21% of variation), but the highest percentage of variation was found between individuals within sites between islands ($F_{ST}=0.07328$, 92.67 % of variation) (Table IV-S5).

The matrix of F_{ST} for Mauritius populations revealed low non-significant values of F_{ST} , which ranged from -0.0095 to 0.072. Most F_{ST} values between Reunion Island populations and Mauritius populations were high and significant, which confirmed population differentiation and restricted gene flow between the islands (Table IV-S6).

The whole dataset was further divided into the three genetic clusters defined by Structure software and the F_{ST} between these clusters revealed significant differences between the three clusters. The highest values were found between cluster 2 and cluster 3 ($F_{ST}=0.1625$) and between cluster 1 and cluster 2 ($F_{ST}=0.115$). The lowest F_{ST} (0.0651) was found between cluster 1 and cluster 3 (data not shown). The DAPC analysis run on the whole dataset, irrespective of any structure, also clearly separated the individuals into three clusters (Figure

IV-S6). These results corroborated results obtained with Structure software (other Bayesian analyses).

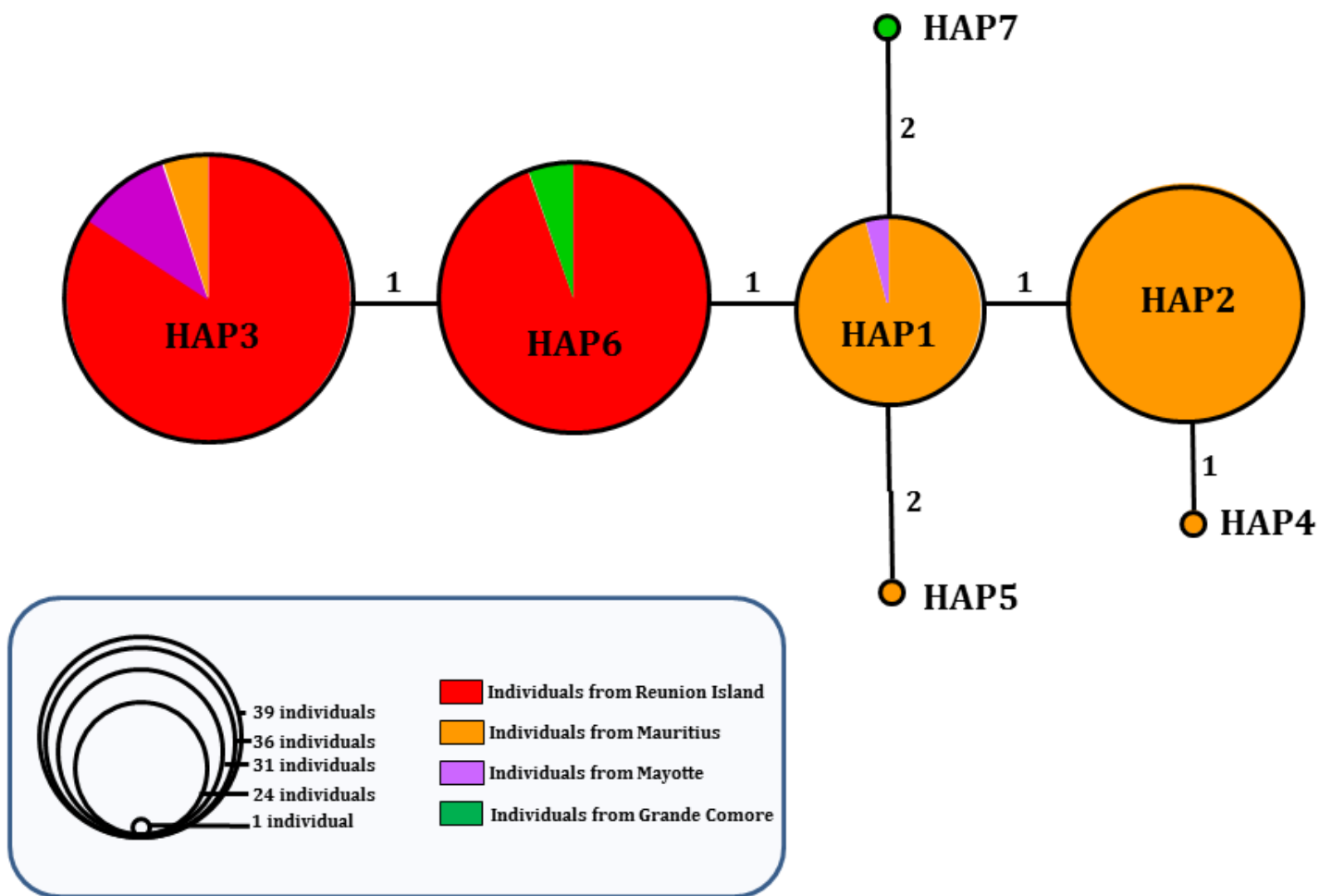


Figure IV-5. Haplotype network based on the seven COI sequence types of *Orthops palus*

The haplotype network was based on 119 adults of *O. palus* sampled on islands in the south-western Indian Ocean. Each circle represents an individual sequence type, sizes indicate frequencies and each color indicates population origin. Mutation steps (including substitution and insertion/deletion) between individual sequence type are shown by the number between the circles.

Indeed, assignment of individuals into the three clusters was similar to assignment with the Structure software between and within islands. These results were supported by complementary PCA analyses, which showed three well differentiated groups of individuals (Figure IV-4).

Mitochondrial DNA

Seven haplotypes (HAP1 to HAP7) were found when analyzing the 135 partial mitochondrial COI sequences of *O. palus* of the different islands in the south-western Indian Ocean (Figure IV-5 and Figure IV-S7). Six polymorphic sites were found in the aligned sequences of 634 bp. The haplotype network (Figure IV-5) showed little variation between each haplotype. Only one different nucleotide was found present between HAP1-HAP2, HAP6-HAP1, HAP3-HAP6, HAP2-HAP4. Two step mutations were observed between HAP1 and HAP5, and between HAP1 and HAP7.

Mauritius had five haplotypes (HAP1 to HAP5). HAP1 and HAP2 were the most frequent haplotypes in Mauritius where HAP2 dominated (31 out of the 59 individuals sequenced). The distribution of the different haplotypes per site in Mauritius showed that HAP1 was present in every site except MAU03, and that HAP2 was also present in every site except MAU01, MAU03, and MAU10. The highest number of haplotypes found per site was in the site in front of Mauritius airport named "Plaisance" (four haplotypes) (Fig.1). Reunion Island had two haplotypes (HAP3 and HAP6), which were present in equal proportions and in every site on the island sampled. Mayotte had two haplotypes (HAP1 and HAP3). One HAP1 individual and two HAP3 individuals were found at Coconi and two HAP3 individuals were collected at Malamani. Two haplotypes (HAP6 and HAP7) were collected at the site named "Mjdoyesi" in Grande Comore (Figure IV-5).

Three out of the five haplotypes found on Mauritius were exclusive to this island. Mayotte had one haplotype that was found at high frequencies in Mauritius (HAP1) and one from Reunion Island (HAP3). No sequenced bugs on Reunion Island had a haplotype specific to Mauritius. On the contrary, one individual from Mauritius (with a 95% likelihood of belonging to cluster 3 from Mauritius) was HAP3, which is one of the dominant haplotypes found on Reunion Island. mtDNA diversity was not structured by site, or by host plant on any of the islands sampled.

Discussion

The present study reports for the first time the presence of *O. palus* on islands in both archipelagos sampled in the Indian Ocean: Mauritius, Mayotte and Grande Comore. Regarding its high polyphagy (19 host plants from 12 different families) and its high adaptability to different habitats (presence of *O. palus* in all sites sampled in Mauritius and all around Reunion Island up to an altitude of 900 m asl.) (Atiama et al., submitted-b), the presence of *O. palus* is also strongly suspected in Madagascar and in other islands in the south-western Indian Ocean. Numerous exchanges of good (plants, fruit and vegetables) between these islands may have enhanced the spread of *O. palus*.

With a similar sampling effort, abundances of *O. palus* on Reunion Island and Mauritius were equivalent. With a low sampling effort in Mayotte and Grande Comore, only a few specimens were found; however wherever a search was made for the mango bug, *O. palus* was found.

The absence of previous identification of *O. palus* in these islands, particularly in Mauritius where the species is as abundant and prevalence (presence in 97% of sample sites) is as high as in Reunion Island (Atiama et al., submitted-a, submitted-c), may be because fewer studies have been made of the insect faunae on mango inflorescences. Furthermore, damage to mango inflorescences have been reported in Mauritius, but most probably misidentified and often attributed to bacteria (anthracnose) or fungi (*Oidium mangiferae*) without complete certainty.

The presence of *O. palus* in Comoros Islands (Grande Comore and Mayotte), and in Mauritius allows us to hypothesize colonization of islands in the south-western Indian Ocean through a stepping-stone model (Kimura and Weiss, 1964) from mainland Africa, where this mirid was first described. This means that mainland *O. palus* populations might have been subdivided into colonies and that migration of individuals in each generation is restricted to nearby colonies (Kimura and Weiss, 1964). This phenomenon is often observed in archipelagos. Species which colonizes a new island through a stepping stone model, retain only part of the genetic diversity of the original population in the new colonized territory (bottleneck effect). Populations of colonizers are not enough to represent all the allelic diversity and rare alleles can be lost. This explains why the genetic diversity of island populations is generally lower than that of continental populations (Frankham, 1997). Furthermore, the small size of island

populations causes more important genetic drift which often creates structured and isolated populations. Structured populations according to island were observed on Mauritius and Reunion Islands, probably confirming this hypothesis.

Nuclear DNA analysis revealed that populations of *O. palus* in Mauritius were not genetically structured but a global analysis including both datasets from Mauritius and Reunion revealed three genetic clusters, still with one genetic cluster in Mauritius (cluster 3) and two distinct genetic clusters (cluster 1 and cluster 2) on Reunion Island. This genetic differentiation between the two islands was further confirmed by DAPC and PCA analysis. But F_{ST} values also confirmed the structure with no significant values between 14 sites within Mauritius and significant values between sites in Mauritius and Reunion Island. Expected heterozygosity, the number and range of alleles, were lower in *O. palus* populations from Mauritius than in populations from Reunion Island. One possible hypothesis to explain this population structure is that Mauritius populations could be the result of severe bottleneck events combined with the action of genetic drift caused by the stepping stone colonization of this island. Several plant and animal species have shown similar stepping-stone colonization in archipelagos (MacArthur and Wilson, 1967). For example, in Hawaii, the case of colonization from one island to the other was observed in the genus *Melicope* (Harbaugh et al., 2009). In the southwestern islands of the Indian Ocean, birds of the genus *Souimanga* (Warren et al., 2003), a nocturnal gecko of the genus *Paroedura*, a tree belonging to *Psiada* (Strijk et al., 2012) and insect species like *Apis mellifera* (Techer, 2015) colonized the islands following the same model.

In contrast, the population structure in Reunion Island could be linked to biotic or abiotic factors but these are difficult to determine. Determination of the population structure of insects in islands is not always easy (Amouroux et al., 2015) because the factors that cause the formation of genetically distinct populations (host plant affiliation, reproductive isolation, etc.) are numerous and not always easy to identify. Environmental conditions, including important temperature and precipitation climate variables, can change sharply with altitude, and play a significant role in determining population and community structure in a variety of organisms, especially in terrestrial insects (Hodkinson, 2005; Whittaker, 1975). However, two hypotheses can be proposed to explain the genetic structure in Reunion Island. The first is that one of the genetic clusters found on Reunion Island came from another island (or from a continental population), not yet sampled in our data set. To answer this question, studies of

genetic diversity (nuclear and mitochondrial DNA) of *O. palus* populations of other SWIO islands and in East Africa are recommended. Indeed, Madagascar has been described as a major source of colonizing lineages for surrounding islands (Janssen et al., 2008; Thébaud et al., 2009). The second hypothesis is that the two populations on Reunion Island arrived a long time ago and started to differentiate due to several biotic or abiotic factors. One of these factors could be cytoplasmic incompatibility induced by endosymbionts such as *Wolbachia* sp.. *Wolbachia* is thought to infect between 40% and 66% of insect species (Hilgenboecker et al., 2008; Zug and Hammerstein, 2012). The Miridae family is known to be host to many bacterial endosymbionts including *Wolbachia* sp. or Rickettsia sp. (Caspi-Fluger et al., 2014; Kikuchi and Fukatsu, 2003; Machtelinckx et al., 2012). These intracellular bacterial endosymbionts are very varied in arthropods and could influence their hosts (Zchori-Fein and Bourtzis, 2011) not only by creating cytoplasmic incompatibility, which is a barrier to hybridization (Gotoh et al., 2006; Machtelinckx et al., 2009; White et al., 2009) but also by creating several other phenotypes (host adaptation) (Nakayama et al., 2015). To investigate this hypothesis, it would be useful to study the presence of endosymbiont bacteria and their influence on the population genetic structure of *O. palus*.

Populations from Mauritius were not at the Hardy Weinberg equilibrium (significant Fis), despite the fact that no structure was observed, so our results might be due to several other factors, such as high inbreeding, high null allele by primers and by sampling populations, as already observed in the study of *O. palus* in Reunion island.

Phylogeographic analysis of mtDNA revealed a diversity of haplotypes (6 haplotypes) between islands. In Mauritius and Reunion Island (high sampling rate), two dominant haplotypes were present in each island. Mauritius and Grande Comore had private haplotypes (HAP2, HAP4, HAP5 in Mauritius, and HAP7 in Grande Comore). Other haplotypes are present on at least two islands, thus corroborating the hypothesis of stepping stone colonization and exchanges between islands (Fig. IV-5).

The Reunion Island and Mauritian clusters were distinct, but traces of gene flow between some individuals were observed. Indeed, with around 10% of genotypes that were not clearly assigned, or potential mixture of clusters in each population, and some individuals the majority of which were assigned ($PP \geq 80\%$) to the genetic cluster of the other island (4.7% for Reunion Island populations; 4.9% for Mauritius populations), studies of nuclear DNA

diversity confirmed exchanges between Mauritius and Reunion Island. Exchanges of *O. palus* and hybridization between Reunion Island and Mauritius populations were also confirmed using the mitochondrial DNA sequences of some of the individuals genotyped. Indeed, one individual from a Mauritian population was clearly assigned to Mauritius genetic cluster 3 at nuclear DNA (PP > 97 %) with a mtDNA haplotype (HAP3), i.e. the most abundant haplotype found on Reunion Island. Furthermore, the highest haplotype diversity (four haplotypes) was found in the sampling sites directly in front of Mauritius airport, suggesting that the airport could be a particular way of entry of *O. palus* in Mauritius. A study of the distribution of haplotypes in SWIO islands also confirmed that exchanges had already taken place between other islands like Mauritius and Mayotte. Further sampling on these islands and a complete genetic study of their populations could help understand the overall pattern of colonization between these islands.

Further investigations should also be conducted on the status of *O. palus* in mango orchards (or other cultivated crops such as lychee, jujube (*Ziziphus sp.*), longan (*Dimocarpus longan*) or tamarind (*Tamarindus indica*)) in Mauritius. The presence of *O. palus* should be looked into in Madagascar, one of the main producers of lychees in the world (FAOSTAT, 2015). If the yield losses observed in those orchards are attributed to this pest, a targeted pest management strategy could be implemented.

Acknowledgments

The authors are extremely grateful to their colleague A. Matocq for his species identification. We thank C. Simiand, M. Techer, M.L. Moutoussamy, T. Chesneau, J. Payet, C. Brunet, J.A.M. Sadeyen, B. Béziat, T. Schmitt, C. Ajaguin Soleyen and the entomological team of Mauritius for technical assistance. We also acknowledge financial support for which we extend our gratitude to the Ministry of Agriculture, Food, Fisheries, Rural Affairs and Spatial Planning via the Trust Account for Agricultural and Rural Development (CASDAR), the Regional and General Council of Reunion Island.

Conflict of Interest

None declared.

Table IV-S3. Host plants and sites in Reunion Island where *Orthops palus* was sampled

Location	Site	Altitude	Number of samples genotyped	Number of samples analyzed	Number of females	Number of males	Host plant	Number of trees sampled	Number of samples collected	Mean of sample per tree	Date of collection	Accession number (attributed cluster)
Kélonia	S1	21	30	28	14	14	Brazilian pepper	8	136	17.00	March-April	KT357449 (1)
Saline - Bellevue	S2	19	20	19	6	13	jujube	3	20	6.67	March-April	KT357470 (2)
La Saline	S3	8	30	26	13	13	Brazilian pepper	20	62	3.10	March-April	KT357412 (2) ; KT357464 (2)
Saint Gilles 1	S4	59	30	29	29	15	Brazilian pepper	9	144	16.00	March-April	KT357427 (1) ; KT357425 (2)
			30	25	15	10	jujube*	34	38	1.12	March-April	-
			5	5	3	2	mango*	10	5	0.50	September-October	-
Saint Gilles 2	S5	113	30	24	13	11	jujube*	6	68	11.33	September-October	KT357465 (2)
			30	21	10	11	mango*	20	69	3.45	September-October	KT357439 (1) ; KT357451 (1) ; KT357408 (2)
			30	26	12	14	jujube*	19	56	2.95	March-April	KT357434 (1)
Cap LaHoussaye	S6	37	30	26	12	14	jujube*	19	56	2.95	March-April	KT357432 (1)
Lycee Agricole	S7	175	30	28	14	14	Brazilian pepper	16	207	12.94	March-April	KT357437 (1) ; KT357418 (1)
Piton Defaud	S8	114	30	29	14	15	Brazilian pepper	12	42	3.50	September-October	KT357437 (1) ; KT357418 (1)
			11	9	5	4	mango*	16	11	0.69	September-October	KT357454 (2)
Grande Chaloupe 1	S9	12	30	27	13	14	jujube	3	41	13.67	March-April	KT357440 (1)
Grande Chaloupe 2	S10	23	30	27	13	14	Dombeya spp.*	5	159	31.80	March-April	KT357436 (1)
Saint Denis	S11	60	30	28	14	14	jujube	1	46	46.00	March-April	KT357422 (1) ; KT357424 (2) ; KT357446 (1) ; KT357459 (2)
Bois Madame	S12	26	30	29	15	14	Brazilian pepper	10	140	14.00	March-April	KT357431 (2)
Sainte Suzanne	S13	40	30	27	14	13	Brazilian pepper	10	141	14.10	March-April	-
			30	26	15	11	mango	5	205	41.00	September-October	KT357435 (1) ; KT357462 (2) ; KT357426 (1)
Bras Panon	S14	45	30	27	13	14	Brazilian pepper	16	72	4.50	March-April	KT357444 (1) ; KT357407 (1)
Saint Benoit	S15	231	23	19	8	11	avocado	3	23	7.67	September-October	KT357447 (1)
Sainte Rose 1	S16	83	30	28	15	13	Brazilian pepper	9	153	17.00	March-April	KT357468 (2) ; KT357421 (2)
Sainte Rose 2	S17	99	30	26	11	15	Brazilian pepper	10	32	3.20	March-April	-
Saint Philippe	S18	55	30	27	15	12	avocado	2	42	21.00	September-October	KT357433 (1) ; KT357469 (2) ; KT357420 (1) ; KT357419 (2)
			30	28	14	14	Brazilian pepper	21	229	10.90	March-April	KT357467 (2) ; KT357423 (1)
			7	6	1	5	mango	10	7	0.70	September-October	-
			30	30	15	15	avocado	4	96	24.00	September-October	KT357455 (2) ; KT357413 (1)
Baril	S19	29	30	27	8	19	mango	4	30	7.50	September-October	KT357445 (1)
Langevin	S20	62	30	27	13	14	Brazilian pepper	12	249	20.75	March-April	KT357452 (2)
Grand Anse	S21	106	30	26	12	14	Brazilian pepper	10	119	11.90	March-April	-
Bras Banane	S22	452	30	28	15	13	avocado*	10	74	7.40	September-October	KT357448 (1) ; KT357461 (2) ; KT357416 (2) ; KT357429 (1) ; KT357417 (1) ; KT357415 (1) ; KT357430 (2)
Ligne Paradis 1	S23	157	30	23	11	12	Brazilian pepper	5	115	23.00	March-April	-
			24	23	15	8	Dombeya spp.	12	24	2.00	March-April	KT357411 (1)
Ligne Paradis 2	S24	141	30	30	15	15	jujube	5	66	13.20	March-April	KT357453 (2)
Bassin Martin	S25	230	11	9	2	7	avocado	5	11	2.20	September-October	-
Bassin Plat	S26	154	30	27	14	13	Brazilian pepper	26	114	4.38	March-April	KT357441 (1)
			30	26	12	14	lychee*	12	103	8.58	September-October	KT357438 (1)
			30	24	13	11	mango*	10	51	5.10	September-October	-
Terrain Fleuri	S27	510	30	24	13	11	Brazilian pepper	4	503	125.75	March-April	-
			45	41	22	19	Dombeya spp.	13	239	18.38	March-April	KT357442 (1) ; KT357460 (2) ; KT357409 (2)
Dassy	S28	541	30	27	13	14	Brazilian pepper	17	50	2.94	March-April	-
Pierrefonds	S29	77	30	26	12	14	Brazilian pepper	13	123	9.46	March-April	-
			41	38	8	30	lychee	5	27	5.40	September-October	KT357443 (1) ; KT357456 (2)
			30	27	14	13	mango*	13	44	3.38	September-October	KT357414 (2) ; KT357405 (2) ; KT357406 (2)
Pointe du Diable	S30	17	30	29	15	14	jujube	3	70	23.33	March-April	-
Le Gol	S31	27	30	28	15	13	Brazilian pepper	8	141	17.63	March-April	KT357450 (1) ; KT357428 (2)
Avirons	S32	266	30	26	13	13	Brazilian pepper	12	284	23.67	March-April	KT357457 (2) ; KT357466 (2)
			9	7	4	3	mango*	15	9	0.60	September-October	KT357410 (1)
Souffleur	S33	20	30	19	9	10	Brazilian pepper	21	45	2.14	March-April	KT357458 (2)
Saint Leu	S34	258	30	29	15	14	Brazilian pepper	16	35	2.19	March-April	KT357463 (2)
Total			1396	1239	620	634						

Table IV-S4. Primer information on the eight loci used for *Orthops palus* populations in Mauritius

GenBank Accession N°: number of the accession in GenBank; Na: number of alleles per locus; Null allele: percentage of null allele per locus; Missing data: percentage of missing data per locus

PCR multiplex set	Dye	Primer name	GenBank Accession N°	Primer sequence (5'-3')	Repeat motif	Allele size range (bp)	Na	Null allele (%)	Missing data (%) for selected samples
1	NED	CIROP14	KR827558	F TCCAGATGATCCTGTGAAACC R AAGACGAATTTATCTTGGGAGTG	(AG) ₉	263-315	13	15.0	11.4
1	6-FAM	CIROP18	KR827559	F CCGAGTTTGCCAAAGTTTTTC R TAAACGAGATTCCGCGAGTT	(TC) ₈	263-295	14	5.8	1.8
1	6-FAM	CIROP23	KR827560	F TTCATTTGCTGAGGAATTACAAGA R CGTAAATAAGCAAGCTCTTAGACTGA	(CT) ₉	75-139	15	11.2	4
1	PET	CIROP25	KR827563	F TACTCCGTTGTATCACTACCCG R ATACAAGACTACCCGACGCC	(TC) ₉	124-188	9	18.8	4.2
2	NED	CIROP10	KR827564	F ACTTCACAGTGACTTCAATAAGCAA R CCCGCAGTACTAATTGTGAATTT	(AG) ₁₂	191-257	24	23.5	17.1
2	6-FAM	CIROP21	KR827565	F AATGCAGATTCGCCATTTTC R TCGGTTCCCTAGCCATGTAG	(AG) ₈	186-198	5	13.6	0.9
2	VIC	CIROP32	KR827566	F TTTTCTTGAGTTGGCACCCT R AATTTGCATCTTTCAAGCAATTA	(AG) ₁₁	122-196	19	13.4	1.6
2	PET	CIROP24	KR827567	F ACCACATTGTCTGTTCAATGTACC	(TC) ₉	130-170	18	25.5	6.9

Table IV-S5. Analyses of molecular variance (AMOVA) of the 14 populations of *Orthops palus* sampled in Mauritius

Percentage of the total genetic variance due to each level and the probability test after 10,000 permutations. Degrees of freedom (df), sums of square deviations (SSD).

The number of levels per factor is in brackets.

The asterisks indicate the significance of fixation index

Groups		df	SSD	Percentage of variation	Variance component	Fixation indices	
Host plant (3)	Among groups	2	5.299	0.23	0.00272	FCT	-0.00332
	Among sites within host-plant	23	41.016	-0.02	0.0433	FSC	0.00236
	Among individuals within sites	423	758.678	34.06	0.95394	FIS	0.34128*
	Within individuals	449	395.5	65.74	1.68725	FIT	0.34065*
Cultivated/Wild (2)	Among groups			-0.33	-0.00444	FCT	0.00048
	Among populations within groups			0.24	0.00316	FSC	0.01651*
	Among individuals with populations			34.16	0.45636	FIS	0.39899*
	Within individuals			65.94	0.88085	FIT	0.4092*

Table IV-S6. Interpopulation pairwise F_{ST} values by site for *Orthops palus* on Reunion Island and in Mauritius. Pairwise comparison for genetic differentiation between sites based on F_{ST} for *Orthops palus*. Statistical significance for the permutation tests after Bonferroni corrections is indicated by * ($P < 0.05$) - Probabilities corrected for multiple comparisons.

[illegible]

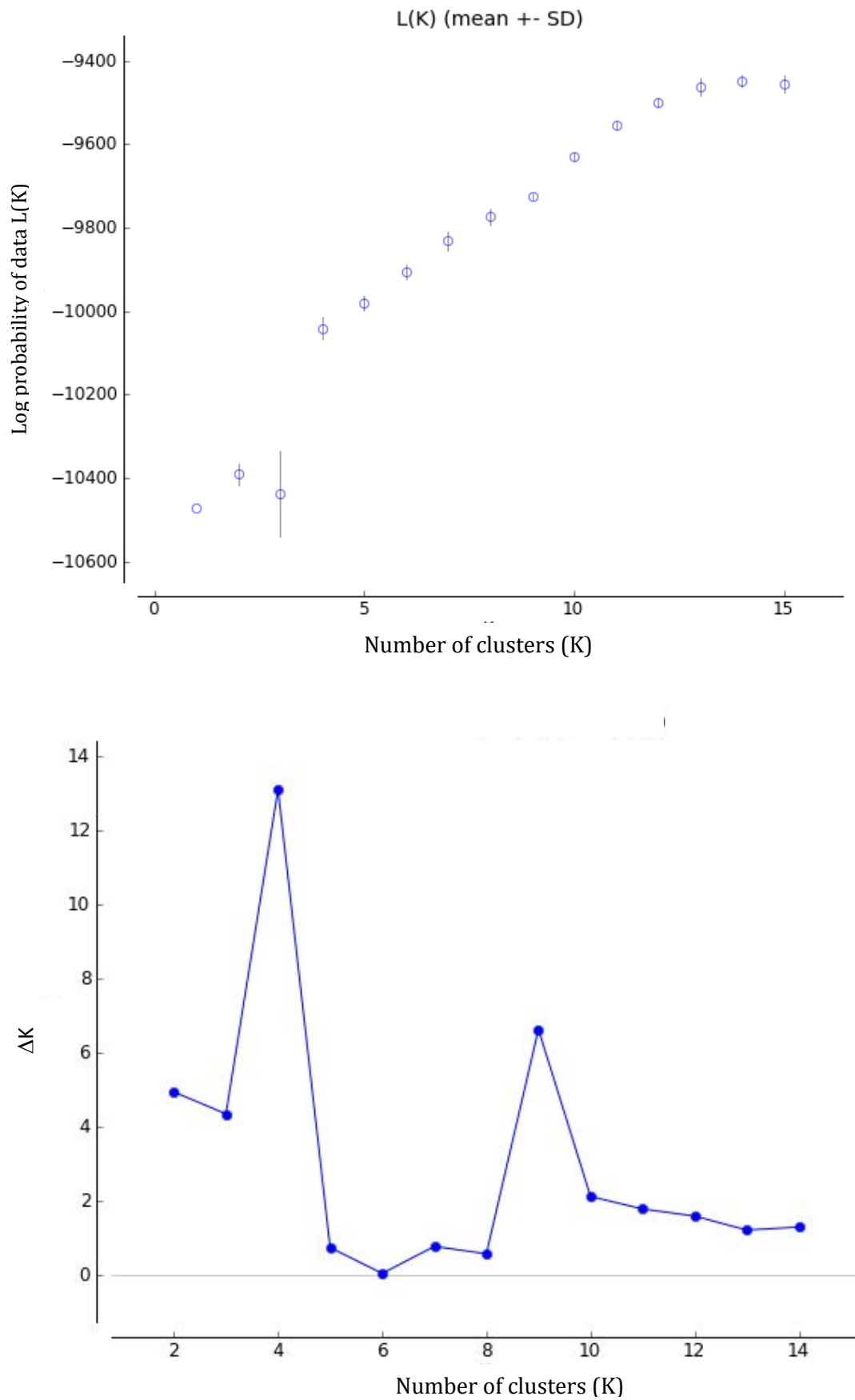


Figure IV-S5. Average likelihood of runs in structure and optimal number of clusters (K) of *Orthops palus* populations of Mauritius according to Evanno *et al.* (2005)

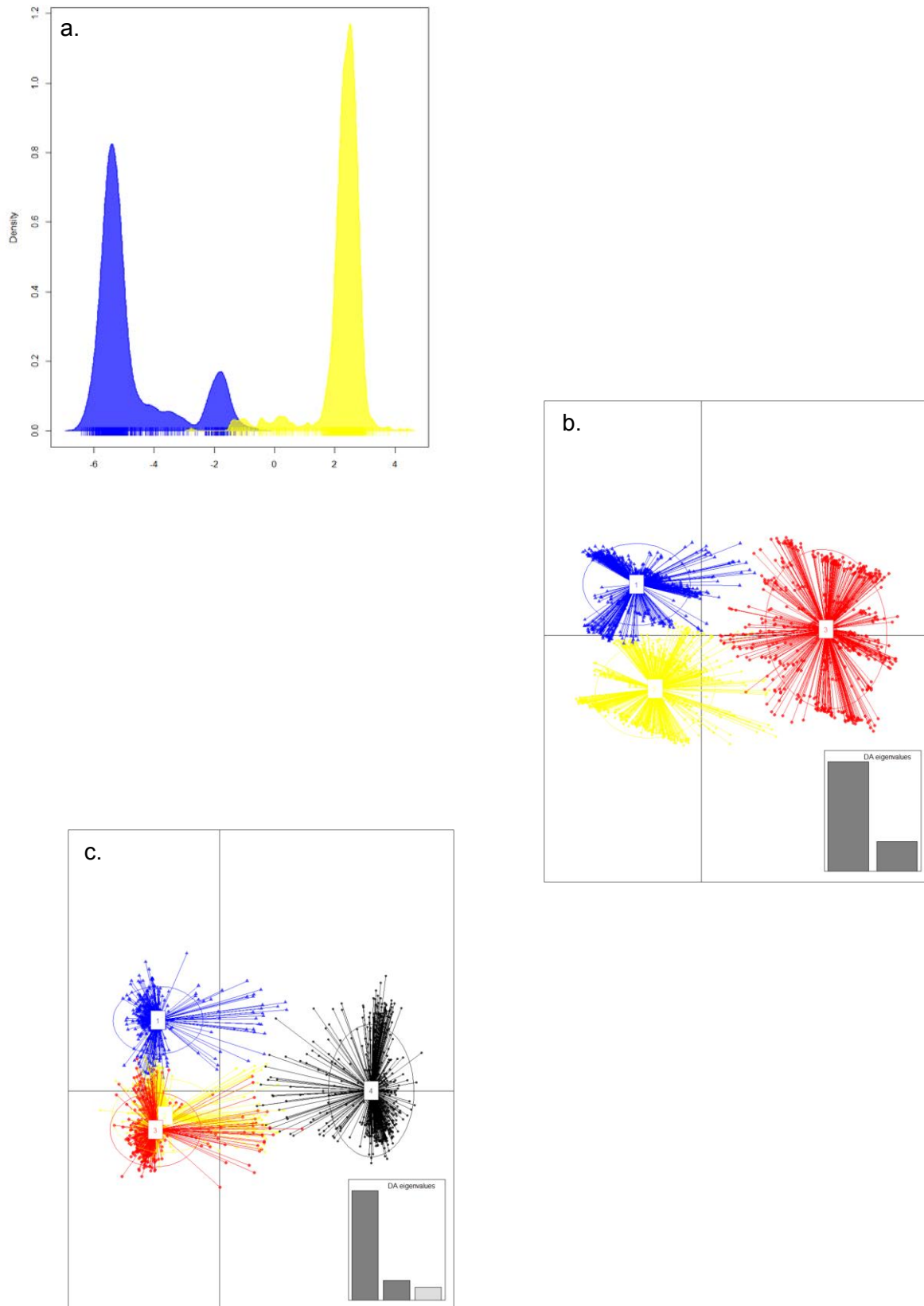


Figure IV-S6. Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) among individual genotypes of *Orthops palus* in Mauritius and Reunion Island
 Topology of *Orthops palus* in different localities in La Reunion and Mauritius obtained by Principal Component Analysis (PCA) using microsatellites.
 a. 2 populations; b. 3 populations; c. 4 populations

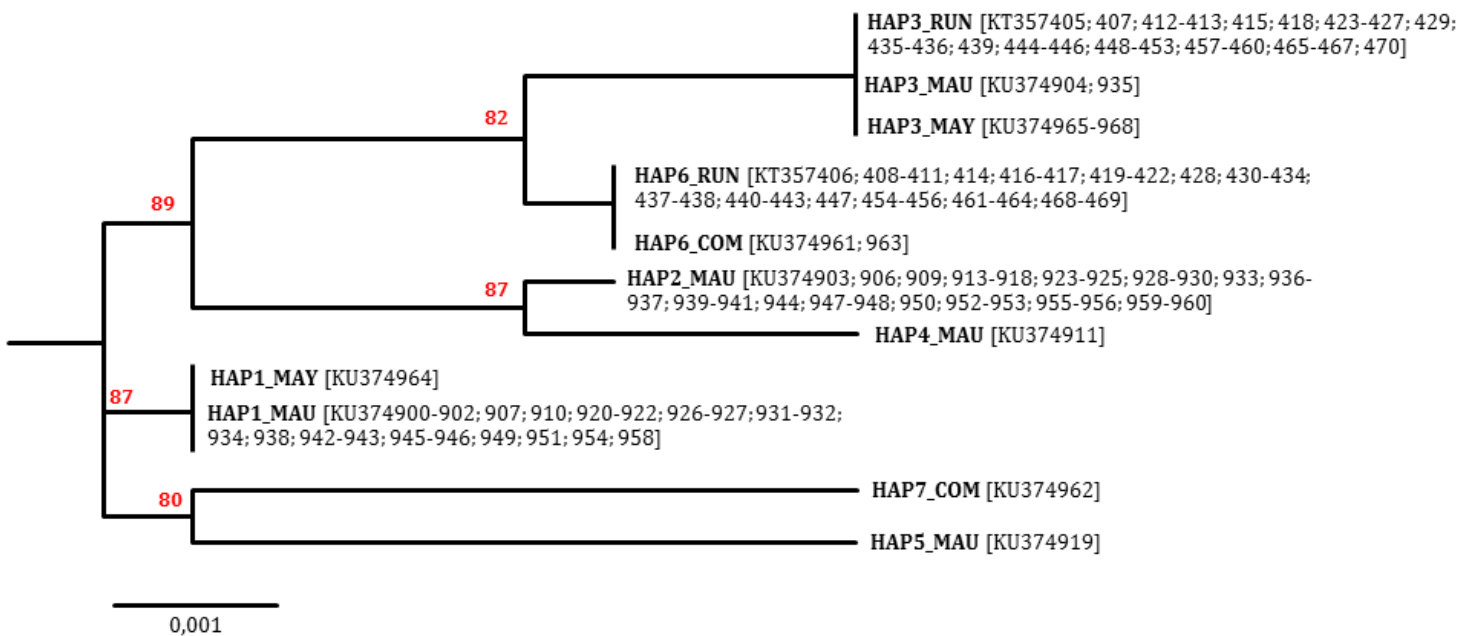


Figure IV-S7. Maximum likelihood tree of 7 haplotypes of Cytochrome c oxidase subunit I of *Orthops palus* in islands in the south-western Indian Ocean

This tree was built with the Generalized Time-Reversible (GTR) model used in Fasttree 2.1.7.

HAP1 to HAP9 correspond to the different haplotypes.

Accession numbers of individual COI sequences deposited in GenBank are in brackets.

The numbers on the top of each branch correspond to bootstraps over 80%.

References

- Amouroux, P., Delatte, H., Nibouche, S., Chadeuf, J., Normand, F., 2015. Genetics and biology of the mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae*, a pest with highly adaptable life strategies, in: Proc. Xth Intl. Mango Symposium. Presented at the Xth Intl. Mango Symposium, International Society for Horticultural Science - ISHS, pp. 215–221. doi:10.17660/ActaHortic.2015.1075.24
- Atiama, M., Deguine, J.-P., submitted-b. First results on bioecology of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae). *Arthropod Plant Interact.*
- Atiama, M., Deguine, J.-P., Delatte, H., in press. Isolation and Characterization of Eleven polymorphic Microsatellite Markers developed for the mango bug, *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae). *J. Insect Sci.*
- Atiama, M., Deguine, J.-P., Delatte, H., submitted-a. Population genetic structure of *Orthops palus* (Heteroptera: Miridae) in Reunion Island and bioecological implications.
- Atiama, M., Ramage, T., Jacquot, M., Sadeyen, A.M.J.E., Delatte, H., Deguine, J.-P., submitted-c. Characterization of Mirid (Heteroptera, Miridae) assemblages in mango orchards in Reunion Island and implementation of identification and recognition tools. *Fruits*.
- Belkhir, K., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F., 1996. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier (France)., Montpellier.
- Caspi-Fluger, A., Inbar, M., Steinberg, S., Friedmann, Y., Freund, M., Mozes-Daube, N., Zchori-Fein, E., 2014. Characterization of the symbiont *Rickettsia* in the mirid bug *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Heteroptera: Miridae). *Bull. Entomol. Res.* 104, 681–688. doi:10.1017/S0007485314000492
- Cassis, G., Schuh, R.T., 2012. Systematics, Biodiversity, Biogeography, and Host Associations of the Miridae (Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Cimicomorpha). *Annu. Rev. Entomol.* 57, 377–404. doi:10.1146/annurev-ento-121510-133533
- Chapuis, M.-P., Estoup, A., 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.* 24, 621–631.
- Chessel, D., Dufour, A.B., Thioulouse, J., others, 2004. The ade4 package-I-One-table methods. *R News* 4, 5–10.

- Dempster, A.P., Laird, N.M., Rubin, D.B., 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. J. R. Stat. Soc. Ser. B Methodol. 1–38.
- Earl, D.A., vonHoldt, B.M., 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conserv. Genet. Resour. 4, 359–361. doi:10.1007/s12686-011-9548-7
- Etienne, J., Roura, A., 1974. Note sur l'entomofaune des manguiers à la Réunion, in: Rapport Annuel de l'IRAT. IRAT, Saint-Denis, La Réunion, pp. 89–92.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. Mol. Ecol. 14, 2611–2620. doi:10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S., 2007. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. Evol. Bioinforma. Online 1, 47–50.
- FAOSTAT, 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database [WWW Document]. URL http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E
- Frankham, R., 1997. Do island populations have less genetic variation than mainland populations? Heredity 78 (3), 311–327.
- Gotoh, T., Noda, H., Ito, S., 2006. Cardinium symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. Heredity 98, 13–20. doi:10.1038/sj.hdy.6800881
- Harbaugh, D.T., Wagner, W.L., Allan, G.J., Zimmer, E.A., 2009. The Hawaiian Archipelago is a stepping stone for dispersal in the Pacific: an example from the plant genus *Melicope* (Rutaceae). J. Biogeogr. 36, 230–241. doi:10.1111/j.1365-2699.2008.02008.x
- Hilgenboecker, K., Hammerstein, P., Schlattmann, P., Telschow, A., Werren, J.H., 2008. How many species are infected with *Wolbachia*? – a statistical analysis of current data. Fems Microbiol. Lett. 281, 215–220. doi:10.1111/j.1574-6968.2008.01110.x
- Hodkinson, I.D., 2005. Terrestrial insects along elevation gradients: species and community responses to altitude. Biol. Rev. 80, 489–513. doi:10.1017/S1464793105006767
- Insa, G., Rossolin, G., Vincenot, D., 2002. La Mangue - Dossier Technico-Economique, 2nd ed. Chambre d'agriculture de La Réunion, Saint-Pierre, La Réunion.
- Jakobsson, M., Rosenberg, N.A., 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. Bioinformatics 23, 1801–1806. doi:10.1093/bioinformatics/btm233

- Janssen, T., Bystriakova, N., Rakotondrainibe, F., Coomes, D., Labat, J.-N., Schneider, H., 2008. Neoendemism in Madagascan Scaly Tree Ferns Results from Recent, Coincident Diversification Bursts. *Evolution* 62, 1876–1889. doi:10.1111/j.1558-5646.2008.00408.x
- Jombart, T., 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24, 1403–1405. doi:10.1093/bioinformatics/btn129
- Jombart, T., Devillard, S., Balloux, F., 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet.* 11, 94. doi:10.1186/1471-2156-11-94
- Kikuchi, Y., Fukatsu, T., 2003. Diversity of *Wolbachia* Endosymbionts in Heteropteran Bugs. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 6082–6090. doi:10.1128/AEM.69.10.6082-6090.2003
- Kimura, M., Weiss, G.H., 1964. The Stepping Stone Model of Population Structure and the Decrease of Genetic Correlation with Distance. *Genetics* 49, 561–576.
- MacArthur, R.H., Wilson, E.O., 1967. *Theory of Island Biogeography*. Princeton University Press, USA.
- Machtelinckx, T., Van Leeuwen, T., Van De Wiele, T., Boon, N., De Vos, W.H., Sanchez, J.-A., Nannini, M., Gheysen, G., De Clercq, P., 2012. Microbial community of predatory bugs of the genus *Macrolophus* (Hemiptera: Miridae). *BMC Microbiol.* 12, S9. doi:10.1186/1471-2180-12-S1-S9
- Machtelinckx, T., Van Leeuwen, T., Vanholme, B., Gehesquière, B., Dermauw, W., Vandekerckhove, B., Gheysen, G., De Clercq, P., 2009. *Wolbachia* induces strong cytoplasmic incompatibility in the predatory bug *Macrolophus pygmaeus*. *Insect Mol. Biol.* 18, 373–381. doi:10.1111/j.1365-2583.2009.00877.x
- Nakayama, S., Parratt, S.R., Hutchence, K.J., Lewis, Z., Price, T. a. R., Hurst, G.D.D., 2015. Can maternally inherited endosymbionts adapt to a novel host? Direct costs of *Spiroplasma* infection, but not vertical transmission efficiency, evolve rapidly after horizontal transfer into *D. melanogaster*. *Heredity* 114, 539–543. doi:10.1038/hdy.2014.112
- Nei, M., 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Normand, F., Michels, T., Lechaudel, M., Joas, J., Vincenot, D., Hoarau, I., Desmulier, X., Barc, G., 2011. Approche intégrée de la filière mangue à La Réunion. *Innov. Agron.* 17, 67–81.

- Park, D.-S., Footitt, R., Maw, E., Hebert, P.D.N., 2011. Barcoding Bugs: DNA-Based Identification of the True Bugs (Insecta: Hemiptera: Heteroptera). PLoS ONE 6, e18749. doi:10.1371/journal.pone.0018749
- Price, M.N., Dehal, P.S., Arkin, A.P., 2009. FastTree: Computing Large Minimum Evolution Trees with Profiles instead of a Distance Matrix. Mol. Biol. Evol. 26, 1641–1650. doi:10.1093/molbev/msp077
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. Genetics 155, 945–959.
- Roderick, G.K., 1996. Geographic Structure of Insect Populations: Gene Flow, Phylogeography, and Their Uses. Annu. Rev. Entomol. 41, 325–352. doi:10.1146/annurev.en.41.010196.001545
- Rosenberg, N.A., 2004. distruct: a program for the graphical display of population structure. Mol. Ecol. Notes 4, 137–138. doi:10.1046/j.1471-8286.2003.00566.x
- Rousset, F., 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. Mol. Ecol. Resour. 8, 103–106. doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x
- Strijk, J.S., Noyes, R.D., Strasberg, D., Cruaud, C., Gavory, F., Chase, M.W., Abbott, R.J., Thébaud, C., 2012. In and out of Madagascar: Dispersal to Peripheral Islands, Insular Speciation and Diversification of Indian Ocean Daisy Trees (Psiadia: Asteraceae). PLoS ONE 7, e42932. doi:10.1371/journal.pone.0042932
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Mol. Biol. Evol. 30, 2725–2729. doi:10.1093/molbev/mst197
- Taylor, T.H.C., 1947. Some East African species of *Lygus*, with notes on their host plants. Bull. Entomol. Res. 38, 233–258.
- Techer, M.A., 2015. Diversité génétique et phylogéographie de l'abeille *Apis mellifera* dans les îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien. Université de La Réunion, Saint-Denis, La Réunion.
- Thébaud, C., Warren, B.H., Strasberg, D., Cheke, A., 2009. Mascarene islands, biology, in: Encyclopedia of Islands. Gillespie R.G., Clague, D.A., pp. 612–619.
- Warren, B.H., Bermingham, E., Bowie, R.C.K., Prys-Jones, R.P., Thébaud, C., 2003. Molecular phylogeography reveals island colonization history and diversification of western Indian Ocean sunbirds (Nectarinia: Nectariniidae). Mol. Phylogenet. Evol. 29, 67–85. doi:10.1016/S1055-7903(03)00063-0

- Weir, B.S., Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution* 38, 1358. doi:10.2307/2408641
- Wheeler, A.G.J., 2001. Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- White, J.A., Kelly, S.E., Perlman, S.J., Hunter, M.S., 2009. Cytoplasmic incompatibility in the parasitic wasp *Encarsia inaron*: disentangling the roles of *Cardinium* and *Wolbachia* symbionts. *Heredity* 102, 483–489. doi:10.1038/hdy.2009.5
- Whittaker, R.H., 1975. *Communities and Ecosystems*, ed. Macmillan Publishing. New-York, USA.
- Zchori-Fein, E., Bourtzis, K., 2011. *Manipulative tenants: bacteria associated with arthropods*, CRC press. ed. Einat Zchori-Fein, Kostas Bourtzis, London, U.K.
- Zug, R., Hammerstein, P., 2012. Still a host of hosts for *Wolbachia*: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. *PloS One* 7, e38544. doi:10.1371/journal.pone.0038544

Chapitre V

Discussion générale

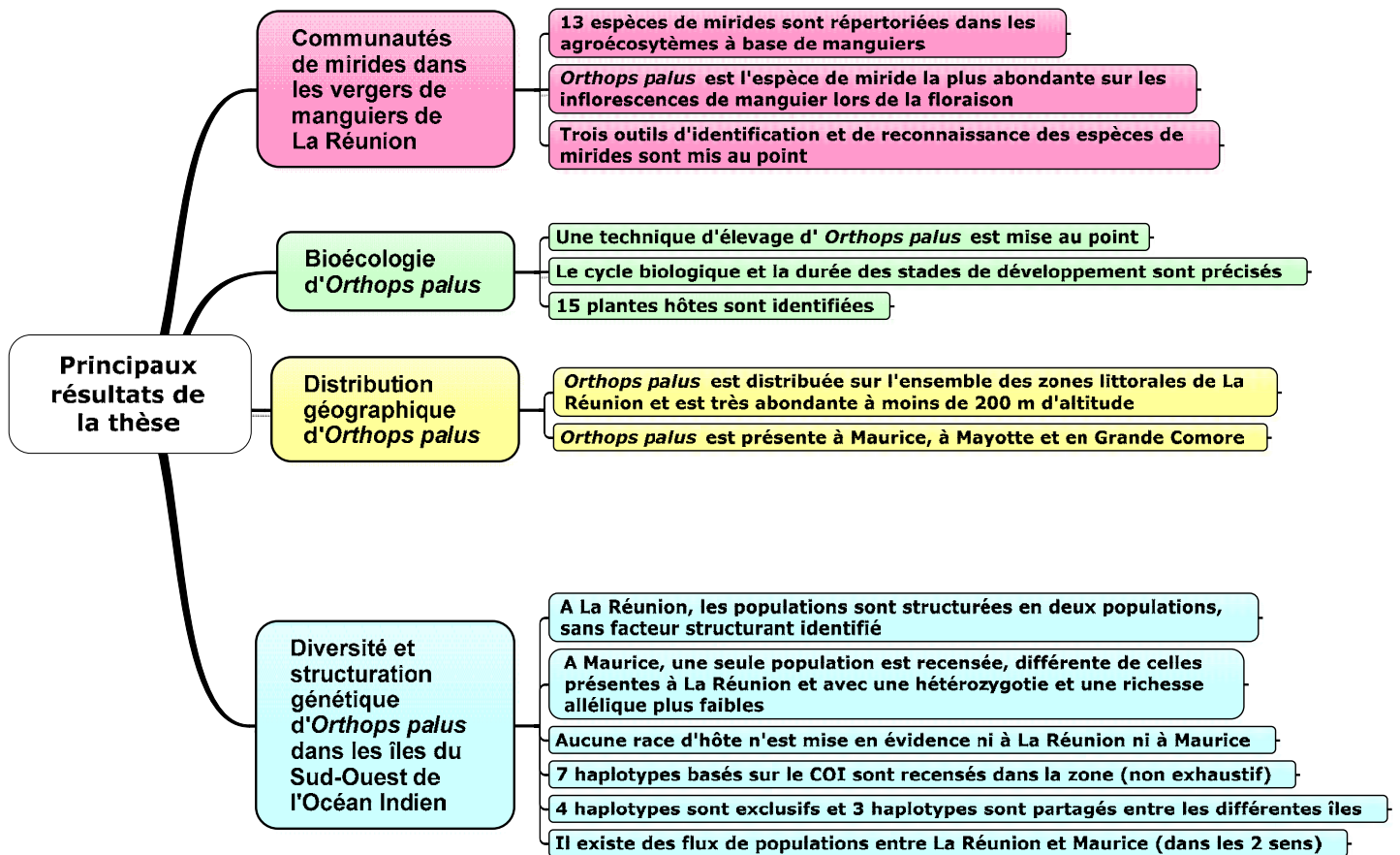


Figure V-1. Principaux résultats de la thèse regroupés en 4 grandes thématiques

La discussion générale de la thèse s'organise en cinq parties. Dans une première partie, les principaux résultats acquis sont rappelés, illustrant les apports cognitifs de la thèse. A la lumière de ces résultats présentés dans les différents chapitres de la thèse, deux parties traitent de manière transversale, des réflexions sur deux thématiques scientifiques : dans un premier temps, la dynamique temporelle d'*O. palus* et son passage de l'année ; dans un second temps, la dynamique spatiale et les flux de populations d'*O. palus* à l'échelle des îles du SOOI. La quatrième partie présente les perspectives de recherches à mener dans de futurs travaux. La cinquième partie porte sur les applications pratiques, résultant des travaux de thèse, à mettre en œuvre pour une gestion agroécologique des populations d'*O. palus*.

Rappel des principaux résultats

Avant la thèse, les connaissances sur les mirides des vergers de manguiers réunionnais en général, et sur *O. palus* en particulier, étaient peu nombreuses, éparées ; elles reposaient essentiellement sur des considérations empiriques, au point que cette punaise n'était pas appelée par sa véritable dénomination taxonomique et qu'on ne disposait d'aucun élément de description de ses stades de développement. La thèse représente une contribution significative puisqu'elle apporte la plupart des connaissances disponibles aujourd'hui dans la littérature sur *O. palus*. Les résultats acquis, résumés dans la figure V-1, représentent des réponses aux questions scientifiques posées en début de thèse, ainsi qu'une base de réflexion pour proposer aux professionnels de l'agriculture des recommandations en matière de protection des cultures.

Les connaissances issues de ces travaux de thèse, publiées ou en voie de l'être dans des revues internationales, sont conséquentes et font aujourd'hui d'*O. palus*, une des espèces de mirides les plus étudiées en cultures fruitières tropicales, si l'on s'en réfère à la synthèse bibliographique présentée dans le chapitre 1 du manuscrit.

***Orthops palus* : une espèce de miride présente toute l'année**

L'utilisation des plantes hôtes constitue l'une des clés du succès écologique des herbivores (Singer 1983). *Sensu stricto*, une plante hôte est une plante sur laquelle un organisme est capable de réaliser une partie ou l'intégralité de son cycle de reproduction (Bernays and Chapman 2007). Ce concept est, néanmoins, utilisé de manière inappropriée par certains

auteurs de travaux sur les mirides, qui l'utilisent pour définir une plante sur laquelle une punaise est retrouvée à un instant donné réalisant une ou plusieurs activités (nutrition, repos, abri, etc.) (Snodgrass et al. 1984 ; Young 1986 ; Holopainen and Varis 1991). Il est ainsi difficile d'évaluer le réel statut des plantes, citées comme hôtes, dans les inventaires sur les mirides de la littérature. D'autres auteurs veillent, en revanche, à éviter toute ambiguïté, en utilisant un vocabulaire plus précis, utilisant les termes de "plante hôte de nutrition" et de "plante hôte de reproduction" (Womack and Schuster 1987). Dans le cas des mirides, la plupart des auteurs considèrent qu'une plante est hôte de reproduction si des adultes et des larves de punaises y sont collectés simultanément (Snodgrass et al. 1984 ; Esquivel and Mowery 2007 ; Ratnadass et al. 2012). En effet, les larves de punaises, aptères et peu mobiles pour les premiers stades, restent généralement sur les plantes sur lesquelles elles sont nées, ce qui laisse entendre qu'elles peuvent y effectuer leur cycle de développement. La reproduction, dans son sens large, comprend l'ensemble des étapes, de la recherche du partenaire à la naissance des néonates. Dans nos travaux, les plantes hôtes de reproduction sont les plantes répondant à cette dernière définition (c'est-à-dire les plantes où ont été simultanément retrouvés des adultes et des larves), témoignant que la plante est le siège de la ponte et du dépôt des œufs par la femelle, de l'éclosion et du développement des larves. Dans nos observations de terrain et de laboratoire, pourtant nombreuses, et malgré la détection sur ces plantes hôtes de reproduction d'adultes mâles et femelles, aucun accouplement n'a été observé. Il est donc difficile d'affirmer que ces plantes sont également les lieux d'accouplement d'*O. palus*. En effet, chez certains insectes comme les mouches des fruits (notamment *Bactrocera cucurbitae*), l'accouplement s'effectue le plus souvent sur d'autres plantes que celles où sont pondus les œufs (en majorité des plantes de la famille des Cucurbitacées) (Deguine et al. 2015) . Par ailleurs, une plante de nutrition est une plante sur laquelle une forte densité d'adultes est observée sans que des larves soient rencontrées. Des symptômes liés à des piqûres de nutrition peuvent être observées dans certains cas. Chez les mirides, on peut considérer toute plante hôte de reproduction comme plante hôte de nutrition, car les larves se nourrissent de ces plantes jusqu'à l'âge adulte. La réciproque n'est, néanmoins, pas vraie. Une plante hôte de reproduction n'a pas la même influence dans la dynamique d'un insecte qu'une plante hôte de nutrition. Ainsi, une plante hôte de nutrition peut permettre à un ou plusieurs stades de l'insecte de s'alimenter et, donc, de se maintenir en vie sur une période propre à l'espèce (durée de vie de l'espèce), alors qu'une plante hôte de reproduction permet à l'insecte de réaliser une nouvelle génération d'individus et, potentiellement, d'augmenter sa population. Dans la suite, nous focalisons nos réflexions sur

les plantes hôtes de reproduction, qui jouent un rôle majeur dans la dynamique de l'insecte. Le terme de "plante hôte" est ainsi utilisé dans le reste de la discussion pour définir une plante hôte de reproduction.

Chez certaines espèces de mirides, on note une spécialisation élevée pour le substrat de nutrition et de reproduction. Cette spécialisation est orientée vers un organe précis de la plante. Un grand nombre d'espèces de mirides présente une préférence marquée pour les organes floraux des végétaux (Wheeler 2001). C'est le cas d'*O. palus*. En effet, durant l'ensemble de nos travaux, malgré plusieurs centaines de collectes réalisées sur des parties végétatives (jeunes pousses ou feuilles matures) des différentes plantes hôtes, et à différentes périodes de l'année, *O. palus* n'a été observée qu'une seule fois se nourrissant sur des jeunes pousses de manguiers. Cette préférence marquée pour les organes floraux est également notée chez de nombreux insectes, comme par exemple les papillons et les phalènes (Lepidoptera) (Sudbrink and Grant 1995 ; Velasco et al. 1995 ; Rajapakse and Walter 2007 ; Liu et al. 2010). Dans la famille des Miridae, cette préférence nette pour les fleurs est à l'origine de leur appellation "Punaises des fleurs" ("Flower bugs") (Kullenberg 1944 ; Wheeler 2001). Les espèces du genre *Lygus*, genre appartenant au même complexe que le genre *Orthops*, sont connues pour montrer cette particularité. Par exemple, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) ou encore *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) se nourrissent principalement des boutons floraux et des fleurs de leurs plantes hôtes (Pack and Tugwell 1976 ; Pan et al. 2013b). Cette préférence pour les organes florifères (boutons floraux et fleurs) serait le fait qu'il s'agit d'organes tendres dont la sève et les contenus cellulaires sont les plus riches en nutriments de la plante (Pellmyr and Thien 1986 ; Smallegange et al. 2007). En effet, ces organes étant en pleine croissance, la sève, qui y afflue plus vite, est plus riche en nutriments pour combler les besoins pour les divisions cellulaires intenses qui y ont lieu. Une autre hypothèse suggère que certaines mirides se nourriraient de pollen ou de nectar, justifiant ainsi leur omniprésence sur les fleurs des végétaux (Wheeler 2001). La nutrition des hétéroptères par le pollen ou le nectar des fleurs a été peu étudiée et est sans doute sous-estimée (Wheeler 2001). Le nectar constitue une importante source de monosaccharides et de polysaccharides, alors que le pollen est riche en azote, protéines et acides aminés libres. Bien qu'aucune espèce du genre *Orthops* n'ait été considérée comme se nourrissant de pollen ou de nectar, le fait que ces espèces soient fortement liées aux plantes de la famille des Apiaceae (Ombellifères) laisse penser que cela pourrait être le cas. En effet, les fleurs des Ombellifères présentent un nectar facilement accessible et bon nombre d'insectes (parasitoïdes notamment) profitent de cette caractéristique (Kevan and Baker 1983). De plus, des cas de nutrition de nectar de la part d'espèces du genre

Lygus (*Lygus lineolaris*) ont déjà été observés (Sholes 1984). Les tissus floraux d'une plante, comme les pétales, contiennent généralement de plus grandes concentrations en azote et en eau, les rendant plus facilement assimilables que les feuilles de cette même plante (Thompson 1983 ; Burgess 1991 ; Matter et al. 1999). Cependant, ils contiennent des composés secondaires et des pigments qui, dans certains cas, ont des rôles de défense pour la plante (Gronquist et al. 2001 ; Held and Potter 2003).

De nombreux herbivores montrant une spécialisation dans leurs habitudes alimentaires ont un cycle de vie étroitement lié à la phénologie de leurs hôtes (Feeny 1975). Certaines espèces de mirides, insectes de petite taille et au développement rapide, ont les capacités pour profiter de ces ressources à courte durée de vie (Bernays 1982). Néanmoins, dans certains cas, cette spécialisation pour les fleurs comporte certains risques (Southwood 1977). En effet, les fleurs sont des organes éphémères et ne sont présentes qu'à une période précise et limitée de l'année pour la majorité des plantes à fleurs. Dans ce contexte, une espèce de miride présentant une spécialisation si étroite avec les fleurs, aurait de meilleures opportunités de se nourrir, de se reproduire et de survivre durant plusieurs mois de l'année si elle est polyphage. Ainsi, en l'absence de sa ressource préférentielle, un spécialiste des fleurs a le choix entre plusieurs stratégies : se déplacer sur les fleurs d'une plante conspécifique ; se déplacer sur les fleurs d'une autre espèce de plante ; utiliser un organe différent de son hôte habituel ; entrer en dormance (diapause ou quiescence) jusqu'à ce que la ressource préférée soit disponible (Simpson and Simpson 1990). La polyphagie permettrait ainsi à certaines espèces de mirides de passer sur un hôte différent en fleur (Schoonhoven et al. 2005) et, de manière plus générale, de passer de plante en fleur à plante en fleur (d'où l'appellation de "Punaise des fleurs").

De nombreux travaux ont été réalisés afin de comprendre les relations étroites qu'entretiennent les insectes phytophages avec leurs plantes hôtes (Schoonhoven et al. 2005). Ces travaux ont mis en évidence que la polyphagie et son degré chez un insecte dépendent du contexte dans lequel il se trouve. Les phénomènes de spécialisation écologique, processus par lequel une espèce d'insecte augmente ses performances dans une proportion de l'environnement qu'elle exploite, en témoignent (Poisot et al. 2011). Il est reconnu que le degré de spécialisation pour une ressource donnée correspond davantage à un attribut flexible d'une population, en réponse aux conditions particulières rencontrées au sein de sa

communauté, qu'à un attribut de l'espèce sur toute son aire de répartition (Fox and Morrow 1981).

Le caractère et le degré de polyphagie d'*O. palus* n'avaient jamais été finement étudiés, ni lors de sa première description (Taylor 1947), ni lors des rares travaux menés à La Réunion (Insa et al. 2002 ; Vincenot and Normand 2009). Cette polyphagie pouvait être suspectée en Ouganda, au vu de la liste de plantes assez variées (5 espèces appartenant à 4 familles végétales) décrites comme hôtes par Taylor (1947). Nos travaux ont permis de clairement mettre en évidence cette polyphagie à La Réunion (15 espèces de plantes hôtes dont le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) utilisé en élevage et le galabert (*Lantana camara*) qui est une plante de nutrition). Nos résultats ne montrent pas uniquement la capacité des populations d'*O. palus* à se nourrir de ces plantes mais ils révèlent surtout qu'*O. palus* exploite effectivement ces espèces végétales sur le terrain.

De plus, l'échantillonnage d'individus dans le cadre de l'étude de la diversité génétique d'*O. palus* a également montré la polyphagie de l'insecte à Maurice, où il est recensé sur le manguier, le letchi et l'avocatier. Les autres plantes hôtes sont très peu présentes à Maurice et n'ont donc pas été échantillonnées, mais il est fort probable que des individus d'*O. palus* auraient pu être collectés sur des plants isolés. Le degré de polyphagie est variable chez les mirides phytophages. La gamme d'hôtes peut être peu large (une dizaine d'espèces) comme très large (plusieurs centaines d'espèces), avec l'exemple d'espèces du genre *Lygus* (*Lygus lineolaris*), où l'on compte près de 400 espèces d'hôtes appartenant à plus de 20 familles végétales (Young 1986 ; Esquivel and Mowery 2007). Dans ce contexte, *O. palus* semble avoir une position intermédiaire entre les espèces polyphages ayant une gamme d'hôtes restreinte et celles ayant une gamme d'hôte large. Deux éléments nous conduisent à cette hypothèse. D'une part, dans nos travaux, nous avons pris une attention particulière à identifier des plantes hôtes de reproduction d'*O. palus*, alors que les travaux de Young (1986), ne s'attachant pas à vérifier de manière stricte le caractère d'hôte de reproduction des plantes sur lesquelles *Lygus lineolaris* était recensée, ont probablement surestimé sa gamme d'hôtes. D'autre part, au vu de la diversité des familles végétales (12 familles) pouvant être les hôtes d'*O. palus*, il est fort probable que sa gamme de plantes hôtes maintenant évaluée à 19 espèces, pourrait s'élargir par la poursuite d'autres investigations.

De manière générale, les insectes phytophages généralistes, en diversifiant les plantes sur lesquelles ils se nourrissent, ont divers avantages. Ils peuvent réaliser un apport sélectif des ressources alimentaires qui leur sont nécessaires (Waldbauer and Friedman 1991 ; Behmer 2009). De plus, certaines plantes hôtes plus riches nutritionnellement peuvent redresser ou prévenir une balance nutritionnelle déséquilibrée (Bernays and Minkenberg 1997 ; Raubenheimer and Jones 2006 ; Lee et al. 2006 ; Behmer 2009) ou mieux convenir aux besoins nutritionnels d'un stade de développement donné (Simpson and Simpson 1990). Enfin, cette diversification leur permet d'améliorer leur survie et leur reproduction (Velasco and Walter 1993 ; Kennedy and Storer 2000 ; Mody et al. 2007 ; Unsicker et al. 2008 ; Franzke et al. 2010 ; Liu et al. 2010). Cependant, un insecte polyphage doit disposer de certaines caractéristiques pour pouvoir exploiter convenablement les différentes ressources. Deux propriétés physiologiques sont particulièrement importantes : la possession des enzymes digestives permettant la digestion des différentes molécules végétales, en concentrations variables chez les espèces (amidon, cellulose, lignine, protéine, etc.) ; la possession de systèmes de détoxification contre les composés de défense des plantes.

Considérant, au vu de nos résultats, qu'*O. palus* montre une préférence marquée pour les fleurs de ses plantes hôtes et qu'elle est polyphage avec une gamme d'hôtes moyennement large, l'hypothèse du passage de plantes en plantes est celle que nous privilégions parmi les quatre principales stratégies permettant à une espèce spécialiste des fleurs de pallier à la durée de vie limitée des fleurs de son hôte.

Le passage de plante en plante est de manière générale couramment observé chez les insectes phytophages généralistes qui exploitent une ressource éphémère chez ses plantes hôtes. L'insecte n'hésite pas à changer d'hôte pour en localiser un nouveau, répondant à ces besoins (Brandenburg and Kennedy 1982 ; Brazzle et al. 1997 ; Kennedy and Storer 2000). Ces changements d'hôtes jouent un rôle important dans le cycle de vie annuelle de l'insecte (Pan et al. 2015). Le passage d'une plante en fleur à une autre plante en fleur est connue chez des nombreuses espèces de mirides, chez des plantes herbacées, arbustives ou arborées (Wheeler 2001). En effet, les paysages agricoles consistent généralement en des champs espacés d'habitats non cultivés, qui fournissent d'abondantes ressources alimentaires pour les espèces phytophages et polyphages (Kennedy and Storer 2000 ; Carrière et al. 2012). Les évolutions phénologiques des différentes plantes forment ainsi des mosaïques d'habitats permettant aux insectes de bénéficier, à différentes périodes, de ressources pour leur nutrition et leur

reproduction (Bradley 1993 ; Kennedy and Storer 2000). De nombreux exemples sont connus, notamment pour des passages de plantes sauvages à des plantes cultivées et réciproquement (Fleischer et al. 1989 ; Dong-Soon et al. 2002 ; Kumar and Musser 2009 ; Pan et al. 2013a ; Kain and Agnello 2013). Les cultures particulièrement étudiées dans le cadre de ces mouvements sont la culture du cotonnier et de la luzerne aux USA (Sevacherian and Stern 1975 ; Snodgrass et al. 2006 ; Jackson et al. 2014).

Cette capacité de passage de plantes en plantes offrent plusieurs avantages dont la possibilité pour l'insecte de satisfaire ses besoins nutritionnels (voir ci-dessus), de faire face aux abondances variables de ses hôtes (saisonnières ou annuelles) et d'éviter une compétition intraspécifique et interspécifique pour certaines plantes hôtes (Dixon 1987). Par exemple, en Chine en 2010, *Apolygus lucorum* (Heteroptera : Miridae) a fait face à une pénurie d'un de ses hôtes principal (*Impatiens balsamina* L.) (décimé par une attaque de mildiou), en s'attaquant à plusieurs de ses autres plantes hôtes (Pan et al. 2013b).

A La Réunion, l'absence de saisons létales (froide ou aride) permet d'avoir des plantes en fleur tout au long de l'année. Sur le plan écologique, nos études montrent qu'*O. palus* dispose des fleurs de ses plantes hôtes quasiment toute l'année (Figure V-2). Par ailleurs, nos études de génétique des populations d'*O. palus* à La Réunion, via des échantillonnages sur les différentes plantes hôtes à différentes périodes de l'année, ont confirmé l'absence de race d'hôte. Cette absence de structuration des populations par rapport à la plante, témoigne de flux génétiques existant entre les populations présentes sur les différentes plantes. Ces insectes ne sont pas isolés sur une plante spécifique ou sur une plante fleurissant à une période restreinte de l'année. Il serait possible de valider le passage de plantes en plantes par l'utilisation de la technique de capture-marquage-recapture. Cette technique est largement utilisée dans l'étude de la dynamique spatiale des insectes et les techniques de marquage sont déjà adaptées pour les mirides (marquage au colorant fluorescent, au vernis à ongle, à la caséine bovine contenue dans le lait entier à l'albumine d'œuf de poule contenue dans le blanc d'œuf) (Sevacherian and Stern 1972 ; Bancroft 2009 ; Spurgeon 2009 ; Cooper and Spurgeon 2010 ; Hagler and Jones 2010).

Ce passage de plante en plante n'est pas sans risque pour la fitness des espèces de mirides. En effet, le choix d'un hôte de "mauvaise qualité reproductive" peut entraîner une forte mortalité des œufs et des larves. Cette "mauvaise qualité reproductive" peut s'exprimer de deux

manières : une forte mortalité des œufs qui ne peuvent pas se développer correctement dans la plante (mécanismes de résistance de la plante) ; une forte mortalité des larves en raison de la faible qualité nutritive de la plante (performance larvaire). Cette qualité reproductive de l'hôte, même si elle n'a pas été évaluée spécifiquement dans notre étude, a pu être estimée en observant les densités de larves retrouvées *in situ* sur les différentes plantes. Au regard des résultats présentés dans le chapitre 3, il semble que le manguier, le letchi, le baie rose et le savonnier soient des hôtes de haute qualité, permettant à *O. palus* d'avoir des niveaux de populations élevés lors de la floraison de ces plantes (une limite est apportée en ce qui concerne le savonnier, peu abondant à La Réunion). Les autres plantes hôtes, largement réparties sur l'île, comme le tamarinier, participent au maintien d'*O. palus*, sans toutefois lui permettre d'avoir des niveaux de populations très importants. Nous gardons, néanmoins, en tête que l'abondance des larves et des adultes n'est pas uniquement liée à la qualité reproductive de l'hôte, mais aussi à de nombreux autres paramètres, comme la préférence de l'espèce pour une plante donnée, la localité et la composition de l'écosystème environnant pour la disponibilité des ressources (Santos et al. 2008 ; Pan et al. 2013b).

Le choix de la plante hôte est une question centrale dans l'étude des interactions insecte-plante (Schoonhoven et al. 2005 ; Bernays and Chapman 2007). Cette sélection est sous l'influence de nombreux facteurs impliquant la génétique, l'olfaction, la vision, les interactions intraspécifiques et interspécifiques (compétition, prédation), qui agissent de manière concomitante (Bernays and Chapman 2007). Néanmoins, de manière générale chez les insectes, les espèces oligophages présentent une assez bonne corrélation entre la préférence des femelles et la performance larvaire alors que les espèces polyphages, par exemple la mouche des fruits *Ceratitis capitata*, ne montrent pas de corrélation positive entre ces deux mécanismes (Joachim-Bravo and Zucoloto 1997). Les composés volatiles des plantes et les stimuli visuels chez les mirides, comme chez de nombreux insectes phytophages, jouent des rôles importants dans la sélection de l'hôte, mais les résultats actuels obtenus, en utilisant des olfactomètres, n'ont pas encore permis d'identifier des composés chimiques, ou des déterminants non chimiques liés aux préférences pour les fleurs (Blackmer and Canas 2005 ; Chen et al. 2010 ; Wu et al. 2012). Par ailleurs, le fait de changer de plante génère aussi des risques quant à la rencontre d'ennemis (prédateurs et parasitoïdes) sur les nouvelles plantes colonisées (Wheeler 2001).

D'autres questions restent en suspens, notamment dans le cadre de la stratégie de reproduction de l'espèce. Sur quelle base la femelle de miride fait-elle le choix de la plante sur laquelle elle

va se rendre ? Est-ce un choix de qualité pour la survie de sa descendance (développement de l'œuf et nutrition de ses larves), un choix pour la qualité nutritive de la plante pour ses propres besoins, ou un choix uniquement lié à la disponibilité des ressources ? Une étude réalisée sur *Apolygus lucorum* en Chine a mis en évidence certaines hypothèses sur les facteurs impliqués dans la sélection de l'hôte. Les auteurs suspectent que les hôtes sélectionnés en hiver le sont pour le refuge et l'oviposition alors que les hôtes de printemps, d'été et d'automne sont choisis pour leur apport dans la performance du développement larvaire (Lu and Wu 2008 ; Geng et al. 2012 ; Dong et al. 2013).

La fidélité d'hôte, c'est-à-dire la tendance d'une espèce d'insecte phytophage à utiliser les mêmes plantes hôtes dans le temps, serait aussi particulièrement intéressante à étudier pour *O. palus* dans le cadre de futurs travaux. De manière générale, il est reconnu que les phytophages spécialistes montrent une fidélité d'hôte élevée alors que les phytophages polyphages révèlent une faible fidélité d'hôte, même si ces derniers gardent une préférence marquée pour des espèces de plantes appartenant aux mêmes familles végétales que ses plantes hôtes habituelles (Bernays 2001 ; Schoonhoven et al. 2005 ; Bernays and Chapman 2007). Chez les mirides, deux études sont signalées sur ce sujet. Une étude chez *A. lucorum* réalisée sur sept ans, a mis en évidence une fidélité d'hôte variant selon les saisons. En effet, près de 90 % des hôtes utilisés au printemps le sont en été, et plus de 36% des hôtes d'été servent également d'hôtes en hiver (Pan et al. 2015). Une autre étude comparant la fidélité d'hôte entre trois espèces de mirides du genre *Adelphocoris*, a confirmé la fidélité plus marquée des phytophages oligophages face aux phytophages polyphages (Pan et al. 2013a). A notre connaissance, aucune étude n'a été entreprise sur la fidélité d'hôte des mirides selon l'année, bien que cela puisse s'avérer pertinent, mais pas évident à estimer au vu de la variabilité phénologique des plantes entre les années.

L'hypothèse impliquant une entrée en diapause d'*O. palus* à une période de l'année n'est pas pour autant rejetée. En effet, il n'est pas illégitime de penser qu'une partie de la population de mirides puisse entrer en diapause, par exemple au mois de novembre, pour en sortir en mars lors de la floraison d'un des meilleurs hôtes qu'est le baie rose. La diapause est observée chez de nombreux insectes en régions tempérées pour le passage de l'hiver (Pullin and Bale 1989 ; Bale and Hayward 2010) ou en région tropicale pour passer les saisons sèches ou éviter d'être actifs durant la saison des fortes pluies (Dingle 1978 ; Tauber and Tauber 1981 ; Denlinger 1986 ; Tauber et al. 1986 ; Pieloor and Seymour 2001 ; Hahn and Denlinger 2011 ;

Amouroux et al. 2014). La diapause est un comportement commun chez les mirides, avec de nombreuses espèces de régions tempérées ou tropicales réalisant une diapause au stade œuf ou adulte (Chippendale 1982 ; Kobayashi and Numata 1995 ; Saulich and Musolin 1996 ; Kotaki 1998 ; Wheeler 2001 ; Musolin and Numata 2004 ; Spurgeon and Brent 2010 ; Brent 2012). Il serait intéressant dans de futurs travaux, de mettre en place des expérimentations visant à étudier l'existence d'une diapause chez *O. palus*. Cette expérimentation consisterait dans un premier temps, à déterminer à quel stade de développement *O. palus* entre en diapause, puis dans un second temps, à déterminer à quelle période et pour combien de temps elle le fait et quelle proportion de la population réalise cette diapause. Des outils existent pour le diagnostic de la diapause chez les mirides adultes. Une méthode consiste en l'analyse de l'hypertrophie de la masse graisseuse et du retard de maturation des ovaires chez les femelles ainsi que des glandes accessoires chez les mâles (Brent 2012). Certaines études tentent de mettre en évidence des caractéristiques morphologiques externes (couleur, forme,...), permettant de plus facilement discerner un miride en diapause (Harris et al. 1984 ; Kobayashi and Numata 1995 ; Kotaki 1998 ; Niva and Takeda 2002 ; Musolin and Numata 2004 ; Musolin et al. 2007 ; Spurgeon and Brent 2010 ; Brent 2012). Nos travaux sur *O. palus* pourraient être complétés par la détermination des stimuli impliqués dans l'induction et la terminaison d'une éventuelle diapause. La régulation (induction et terminaison) de la diapause est sous l'influence de multiples facteurs abiotiques qui ont été étudiés préférentiellement chez les espèces des milieux tempérés (Danks 1978 ; Denlinger 1986). Les changements de températures, d'humidité relative, de densité de population ou de disponibilité en ressources semblent être les principaux stimuli dans la diapause en milieu tropical (Tauber et al. 1986). La terminaison de la diapause chez de nombreux insectes tropicaux peut être attribuée aux pluies ou à la forte humidité (chez les Lépidoptères (Jones 1987 ; Kemp 2001 ; Pieloor and Seymour 2001), les Hyménoptères (Seymour 1991 ; Seymour and Jones 2000), les Orthoptères (Ingrisch 1987 ; Tanaka 1987) ou les Coléoptères (Tanaka et al. 1987)), mais aussi à la disponibilité en ressources pour la nutrition et la ponte (Canzano et al. 2003). Néanmoins, chez les mirides, la réponse de la diapause aux stimuli est connue pour être hétérogène. Une étude récente a montré que cette hétérogénéité permet à des populations de *Lygus hesperus* en Arizona de s'adapter aux conditions locales (Brent 2015).

***Orthops palus* : une présence et des échanges dans le Sud-Ouest de l'Océan Indien**

Avant le début de la thèse, *O. palus* n'était signalée qu'en Ouganda (Taylor 1947) et à La Réunion (Etienne and Roura 1974). Ces travaux de thèse ont permis de mettre en évidence la présence de l'espèce sur trois autres îles du SOOI : Maurice, Mayotte et Grande Comore. L'espèce a été retrouvée dans chacune de ces îles et ceci même dans le cas où les efforts d'échantillonnage ont été moins conséquents (6 sites échantillonnés à Mayotte et en Grande Comore). Deux caractéristiques de l'espèce pourraient expliquer son établissement dans ces îles : son régime polyphage relativement large (19 plantes hôtes de 12 familles végétales) et sa capacité à coloniser de multiples contextes climatiques (en référence à sa présence sur tout le pourtour de La Réunion et au fait que l'espèce a aussi été retrouvée jusqu'à 900 m d'altitude). La recherche d'*O. palus* dans les autres îles du SOOI (Anjouan, Mohéli, Madagascar, Seychelles, Rodrigues) n'a pas été entreprise, mais il est fort probable qu'*O. palus* soit présente dans d'autres îles de l'archipel des Comores (Mohéli, Anjouan) ou à Madagascar dont le contexte agricole est favorable à la présence de l'espèce avec notamment l'importante culture de letchi et de mangue.

Le statut de ravageur de l'espèce est toutefois uniquement reconnu à La Réunion, où cette punaise est présentée comme le ravageur numéro un du manguier. Sa prévalence à Maurice est très forte (97% de relevés positifs) et similaire à celle à La Réunion. Il est donc fort probable que l'espèce génère à Maurice, ou soit en mesure d'y générer, des dégâts sur le manguier, le letchi et l'avocatier (les trois plantes échantillonnées), même si ces observations n'ont pas été enregistrées. Plusieurs raisons peuvent expliquer cette absence de renseignement : des traitements phytosanitaires effectués contre d'autres ravageurs du manguier peuvent masquer les dégâts d'*O. palus* ; aucune étude fine n'a été conduite sur l'entomofaune des vergers de manguier, de letchi ou d'avocatier à Maurice ; il est difficile de relier la perte de rendement d'un manguier à l'ampleur d'une attaque de punaises en raison des caractéristiques physiologiques du manguier. Chaque manguier, entre sa floraison et sa fructification, va réaliser un essaimage naturel qui va correspondre à la chute volontaire de petits fruits. La proportion de cet essaimage est très variable et n'est jusqu'à présent pas quantifiée. Une autre caractéristique physiologique du manguier est sa production fluctuante, notamment après une année très productive, la production de l'année suivante est souvent

moins importante. Ces deux caractéristiques provoquent une baisse de rendement qui peut faire négliger l'importance de ravageurs sur la culture (Vincenot and Normand 2009).

L'étude de la structuration génétique des populations à partir de marqueurs microsatellites à La Réunion et à Maurice a révélé la présence de deux clusters génétiques équitablement répartis à La Réunion et d'un troisième cluster génétique, différent, à Maurice. Néanmoins, plus de 10% des individus étudiés dans chaque île sont assignés au(x) cluster(s) de l'autre île, témoignant de l'existence d'échanges entre les deux îles. Ces échanges sont confirmés par l'étude de la distribution des haplotypes basés sur la séquence du COI (ADN mitochondriale) d'individus de La Réunion, de Maurice, de Mayotte et de Grande Comore. Un exemple caractéristique de ces échanges, est un individu retrouvé à Maurice qui est assigné au cluster de Maurice à l'analyse de son ADN nucléaire, mais dont la séquence COI (ADN mitochondriale) correspond à celle d'un haplotype prépondérant à La Réunion (Figure IV-5). L'analyse des haplotypes a également mis en évidence l'existence d'autres échanges dans la zone, entre Mayotte et Maurice, Mayotte et La Réunion, et la Grande Comore et La Réunion (Figure IV-5). Ces échanges sont des arguments en faveur d'une hypothèse de colonisation de la zone selon un modèle de "stepping stone" (Kimura and Weiss 1964). Souvent observée dans les archipels comme à Hawaï (Harbaugh et al. 2009), la colonisation selon un modèle du type "stepping stone" consiste à des échanges de proche en proche (au "pas à pas") entre les îles (Kimura and Weiss 1964 ; MacArthur and Wilson 1967). Ce type de colonisation se caractérise souvent par un goulot d'étranglement des populations (pool génétique de la population migrante plus restreint que celle d'origine) s'installant dans un nouveau territoire et avec le temps, la diversité génétique diminue, avec notamment la perte des allèles rares, par le phénomène de dérive génétique. C'est peut-être ce que l'on observe à Maurice, où les indices de diversité, comme la richesse allélique, ou encore l'hétérozygotie attendue, sont plus faibles que ceux observés à La Réunion.

Malgré ces flux entre les différents clusters de La Réunion et de Maurice, les deux clusters présents à La Réunion sont bien différents de celui présent à Maurice. Les facteurs structurant les deux clusters à La Réunion n'ont pu être identifiés, malgré l'étude de l'impact de nombreux facteurs abiotiques, comme la zone de l'île, la côte de l'île, la zone de production de la mangue notamment. Les résultats ont aussi montré qu'aucune race d'hôte n'est observée à La Réunion (comme à Maurice), pourtant présente chez certaines espèces de mirides comme par exemple chez *Creontiades dilutus* avec les plantes du genre *Cullen* (Fabaceae) en

Australie (Hereward et al. 2013). Ces facteurs n'expliquant pas la structuration de populations observée, d'autres facteurs doivent intervenir. Ces facteurs, biotiques ou abiotiques qui pourraient provoquer des structurations de populations sont nombreux. Les conditions environnementales constituent l'un des facteurs abiotiques le plus influent pour structurer une population. En effet, pour de nombreux insectes, les variations de températures, de pluviométries qui évoluent avec l'altitude jouent un rôle significatif dans la création de communautés d'organismes (Whittaker 1975 ; Hodkinson 2005). Par exemple, à La Réunion, la population de *Bactrocera cucurbitae* est structurée en trois clusters, sous l'influence de facteurs abiotiques (Jacquard et al. 2013). Des structurations de populations dont les facteurs structurants n'ont pas été identifiés existent également à La Réunion. C'est le cas de la cécidomyie des fleurs du manguier, dont la structuration des populations en deux clusters en sympatrie n'a pu être expliquée (Amouroux et al. 2013).

Concernant la Punaise du manguier, deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer les deux clusters retrouvés à La Réunion. La première hypothèse serait qu'un des deux clusters présents à La Réunion soit arrivé récemment en provenance d'une population d'une île proche (ou de l'Afrique) non échantillonné dans le cadre de nos travaux (autre que Maurice), et serait donc différent du cluster présent plus anciennement à La Réunion. Cette hypothèse est plausible quand on sait que de nombreuses lignées colonisatrices présentes dans les îles du SOOI ont pour origine Madagascar (Janssen et al. 2008 ; Thébaud et al. 2009). Dans ce contexte, pour confirmer cette hypothèse, il serait pertinent d'échantillonner des individus d'*O. palus* dans les îles environnantes pour étudier la diversité de l'ADN nucléaire qui s'y trouve et, ainsi, d'établir clairement les voies de colonisation potentielles. Dans nos travaux, nous avons vu la pertinence de l'apport de données sur la diversité génétique nucléaire d'*O. palus* à Maurice puisqu'elles ont permis de mettre en évidence que plus de 10 % des individus réunionnais se révèlent être des individus assignés au cluster 3 de Maurice.

La seconde hypothèse avancée serait que les deux clusters, aujourd'hui présents à La Réunion se seraient formés par isolation et différenciation d'une même population (d'origine extra-réunionnaise) arrivée à La Réunion depuis un temps suffisamment long pour permettre cette différenciation. Les facteurs biotiques et abiotiques pouvant expliquer cette différenciation sont multiples. Les microclimats très divers à La Réunion faciliteraient l'isolement d'individus. Néanmoins, un facteur lié à un phénomène d'incompatibilité cytoplasmique pourrait entrer en jeu. Ce type d'incompatibilité peut être induit par des endosymbiontes de

type *Wolbachia*. Les bactéries du genre *Wolbachia* sont connues pour infecter entre 40 % et 66 % des espèces d'insectes (Hilgenboecker et al. 2008 ; Zug and Hammerstein 2012). De plus, les mirides sont connus pour être des hôtes de nombreux endosymbiontes de type *Wolbachia* ou *Rickettsia* (Kikuchi and Fukatsu 2003 ; Machtelinckx et al. 2012 ; Caspi-Fluger et al. 2014). Les effets phénotypiques de telles infections sont divers, comme des manipulations de la reproduction de l'hôte à travers la mort des mâles (Jiggins et al. 2001), l'incompatibilité cytoplasmique (Poinsot et al. 2003), l'induction de la parthénogénèse (Stouthamer et al. 1999), ou la féminisation des mâles (Hiroki et al. 2002 ; Vandekerckhove et al. 2003). Ces effets peuvent avoir de larges impacts sur l'écologie de l'espèce. La recherche d'endosymbiontes du genre *Wolbachia* dans les populations d'*O. palus* de La Réunion et l'étude de leur distribution au sein des deux clusters pourraient permettre d'expliquer cette structuration.

Perspectives de recherche

Des travaux restent encore à mener pour compléter les connaissances acquises lors de cette thèse sur *O. palus*. Plusieurs domaines d'investigation sont concernés.

Dans un premier temps, des connaissances sur la dynamique spatio-temporelle des populations d'*O. palus* à l'échelle du verger ou d'un bassin de production paraissent nécessaires à acquérir. L'utilisation de la technique de capture-marquage-recapture pourrait se révéler adaptée aux suivis des individus et aux études des modalités de dispersion au sein des vergers. L'étude de la dynamique temporelle consisterait aussi à évaluer la réalisation, ou non, d'une diapause des populations d'*O. palus* à La Réunion. Par ailleurs, un approfondissement de la connaissance des interactions insecte-plante de l'espèce peut être réalisé par la caractérisation des dégâts, l'évaluation d'un seuil de nuisibilité, ou encore par la poursuite de l'étude de la gamme d'hôtes d'*O. palus*. De plus, les études sur la bioécologie de l'espèce pourraient confirmer et affiner les résultats acquis, notamment sur la durée de vie adulte moyenne et la fécondité. Dans une optique d'application sur le terrain, la préférence alimentaire entre les différentes plantes hôtes pourrait également être étudiée en cage au laboratoire et en cage de comportement, en conditions semi-naturelles, pour identifier une ou plusieurs plantes pièges susceptibles d'être insérées en périphérie des vergers de manguiers. Enfin, l'évaluation qualitative et quantitative des dégâts d'*O. palus* devrait être entreprise. En

effet, durant nos trois années d'expérimentations, très peu de cas d'attaques sévères et exclusivement réalisées par *O. palus* ont été observées. Les parcelles présentaient, la plupart du temps, des dégâts liés à l'attaque concomitante de plusieurs bio-agresseurs, notamment d'oïdium.

Concernant les dégâts éventuels d'autres mirides sur le manguier, il paraît pertinent d'évaluer le risque que représente *Campylomma* cf. *angustior* dans les vergers, c'est en effet la deuxième espèce de miride phytophage la plus abondante sur les inflorescences de manguier. De plus, une vérification du caractère zoophage strict de *C. leucochila* mérite d'être envisagée. Elle permettrait, d'une part, de s'assurer que cette espèce ne représente pas une menace pour le manguier et, d'autre part, d'évaluer son possible rôle de biocontrôle sur des ravageurs du manguier, dont *O. palus*. Parallèlement, il est envisageable de mener des études sur l'impact d'*O. palus* sur les autres cultures d'importance économique ou ornementale, particulièrement celles où de très fortes densités adultes ont été retrouvées comme le letchi, l'avocatier, le *Dombeya*, le jujubier, le tamarinier ou encore le baie rose.

A l'échelle régionale, des investigations doivent encore être menées pour évaluer la présence de l'espèce dans d'autres territoires (Afrique de l'Est et centrale (pays frontaliers de l'Ouganda), îles de l'Océan Indien (Madagascar, Rodrigues, Seychelles etc.)) et pour étudier les facteurs pouvant influencer la structuration génétique des populations (présence d'endosymbiontes par exemple). Une étude plus approfondie de la diversité génétique d'*O. palus*, reposant sur l'échantillonnage de nombreux individus d'Ouganda et des îles du SOOI offrirait des éléments de réponse relatives aux interrogations sur les chemins de migration des populations dans la zone.

Enfin, la mise au point d'un élevage d'*O. palus* a permis la caractérisation du cycle et des durées de développement de l'espèce et elle ouvre la possibilité de nombreuses expérimentations. Des essais testant l'efficacité d'agents de biocontrôle contre *O. palus* (champignon entomopathogène), ou encore de l'efficacité de bio-insecticides contre *O. palus* (extraits de plantes) pourraient être réalisés. Des projets (AttractmyFly et Biopiper) sont actuellement en cours sur d'autres insectes, mais les techniques pourraient être adaptées au cas d'*O. palus*.

Applications pratiques pour la gestion agroécologique des populations d'*Orthops palus*

L'ensemble des informations acquises lors de ces travaux de thèse permet de proposer des méthodes de gestion des populations d'*O. palus* à l'échelle de l'agroécosystème. La production de la mangue à La Réunion s'oriente, depuis quelques années, vers une protection agroécologique des cultures (PAEC) (Deguine et al. 2016). Cette démarche, déclinant les principes de l'agroécologie au domaine de la protection des cultures, s'appuie sur deux axes : favoriser la biodiversité végétale dans les agroécosystèmes et favoriser la santé du sol. Ces deux axes permettent d'optimiser les interactions entre les communautés végétales (cultures, autres plantes, adventices, plantes pièges ou refuges, etc.) et les communautés animales (ravageurs, auxiliaires). Les trois piliers qui constituent la PAEC et qui sont liés entre eux, sont la prophylaxie, la lutte biologique (notamment la lutte biologique par conservation) et la gestion des communautés végétales et animales (dont la gestion des habitats). La mise en œuvre de la PAEC s'effectue selon une stratégie phytosanitaire ordonnée, en plusieurs étapes, qui sont rappelées dans la figure V-2. Cette stratégie peut s'appliquer à la gestion agroécologique des populations d'*Orthops palus*.

Sur le plan réglementaire, la présence d'*O. palus* n'étant pas signalée dans toutes les îles de l'Océan Indien, les mesures déjà existantes réglementant l'importation de matières végétales et les mesures d'inspection des végétaux exportés, doivent permettre de limiter la propagation de l'insecte.

Parmi les mesures préventives, la première recommandation à mettre en œuvre serait de limiter au maximum l'implantation d'espèces hôtes d'*O. palus* à proximité des vergers. Il s'agit d'éviter de fournir des ressources florales, permettant aux populations d'*O. palus*, de se maintenir à des niveaux élevés de populations. Par exemple, l'implantation de plants de letchi à proximité de manguiers de type José et Cogshall est à déconseiller, car ces deux espèces ont des floraisons à des périodes communes. Il en est de même pour la présence de baies roses à proximité de parcelles de jujubiers. La seconde recommandation est de gérer rigoureusement la présence et les attaques d'oïdium dans les vergers. En effet, l'observation de symptômes sur les inflorescences de manguier lors de pullulation d'*O. palus* montre, dans la grande majorité des cas (80 %), la présence simultanée de piqûres de punaises et d'un feutrage blanc caractéristique d'attaques d'oïdium (Figure V-3). Les symptômes provoqués par ces deux

bioagresseurs sont alors difficilement discernables lorsqu'ils sont concomitants, ce qui donne lieu à des conclusions biaisées sur l'origine des dégâts. Ainsi, des dégâts imputés à *O. palus*, trouvent probablement leur origine dans des attaques d'oïdium. Réciproquement, des piqûres de nutrition des punaises peuvent aussi être des "portes d'entrée" pour les spores de champignons (Wheeler 2001).

Parmi les différentes formes de lutte biologique, la première forme à privilégier est la lutte biologique par conservation, notamment lorsque la pression en pesticides chimiques est fortement réduite ou supprimée, ce qui est l'orientation prise à La Réunion. On peut mettre en place, dans ou autour des vergers, des habitats (couvertures végétales, bandes fleuries, plantes refuges) favorables aux arthropodes utiles (prédateurs, parasitoïdes, pollinisateurs), en particulier aux ennemis naturels d'*O. palus*. Par exemple, une étude des communautés de parasitoïdes dans les vergers de manguiers réunionnais a montré la présence de parasitoïdes du genre *Leiophron* (Jacquot, communication personnelle 2015).

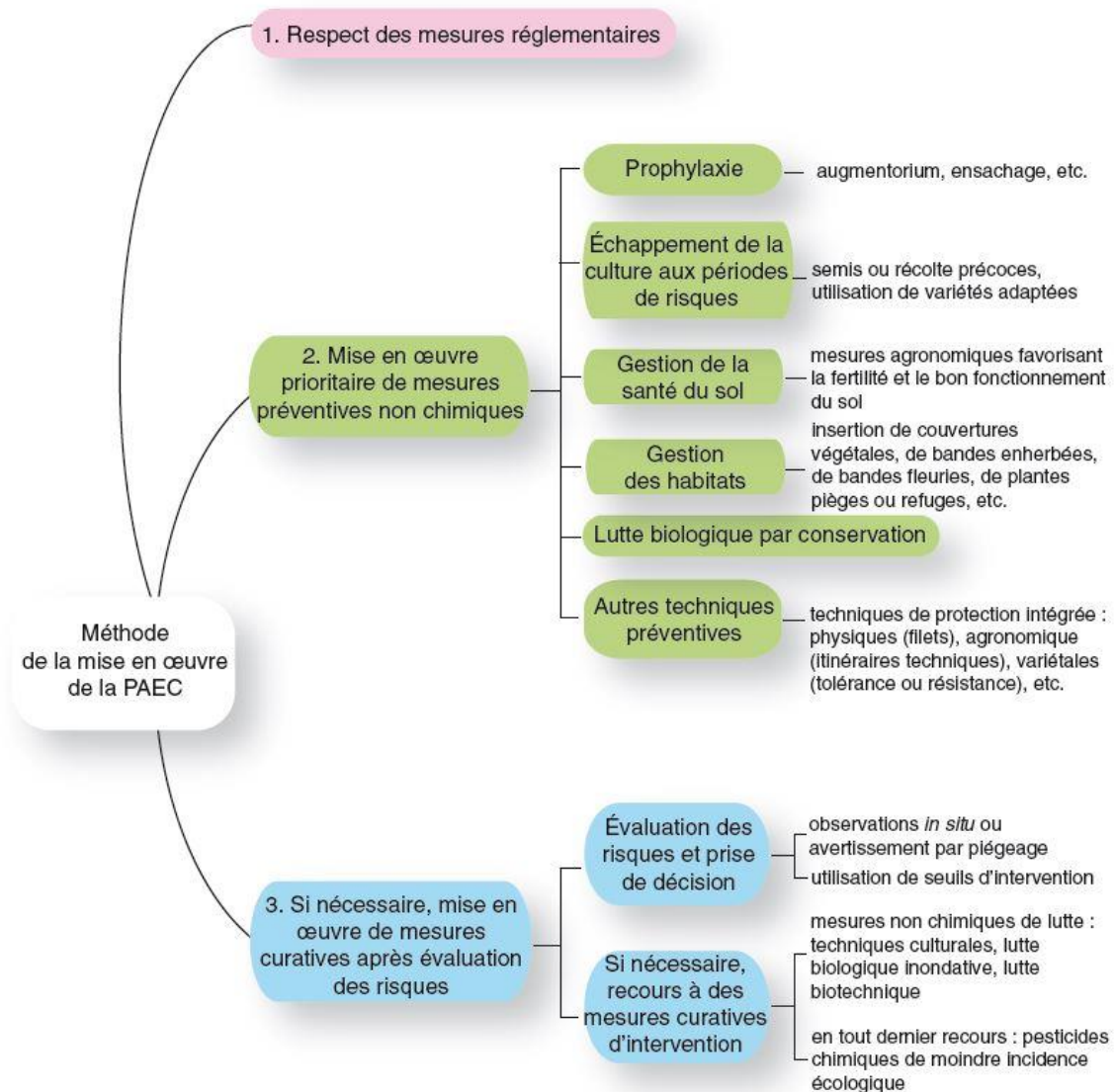


Figure V-2. Méthodes de mise en œuvre de la protection agroécologique des cultures sur le terrain
(D'après Deguine et al., 2016)



Figure V-3. Inflorescences de manguier présentant simultanément des symptômes de piqûres d'*Orthops palus* et d'attaques d'autres bioagresseurs
a. *Procontarinia mangiferae* et *Orthops palus*; b. *Oidium mangiferae* et *Orthops palus*
(Photographies : Morguen Atiama)

Les hyménoptères de ce genre sont connus pour être des parasitoïdes larvaires de mirides du genre *Lygus* (Williams et al. 2003 ; Demirel et al. 2005). La poursuite de cette étude, en cours, pourrait révéler la présence d'autres espèces de parasitoïdes à fort potentiel de biocontrôle d'*O. palus*. Le rôle des prédateurs d'*O. palus* est également à mieux prendre en compte. Le pois d'Angole, arbuste commun dans les zones de vergers de manguiers, est un abri privilégié pour de nombreux auxiliaires (Deguine, communication personnelle 2012). L'espèce *Nesidiocoris volucer*, punaise prédatrice généraliste, y est fréquemment rencontrée (Festin, communication personnelle, 2016) et elle pourrait jouer un rôle dans la régulation d'*O. palus*. De plus, des investigations doivent être menées pour connaître le rôle de *Campylomma leucochila* dans les inflorescences de manguiers, qui pourrait se révéler être un prédateur des larves d'*O. palus*. Cette étape de lutte biologique par conservation n'a de sens que si les traitements insecticides, pratiqués de manière préventive et sans grand intérêt, sont supprimés ou très fortement réduits.

L'utilisation de champignons entomopathogènes est aussi une solution de biocontrôle envisageable à moyen terme. En effet, plusieurs souches de champignons du genre *Beauveria*, sont utilisées à travers le monde pour lutter contre des espèces du genre *Lygus*, par exemple contre *Lygus hesperus* en culture de luzerne ou encore *Apolygus lucorum* en culture de cotonnier (McGuire et al. 2006 ; Tong YaJuan et al. 2010 ; Portilla et al. 2014). De plus, des essais sont actuellement en cours à La Réunion pour tester l'intérêt d'utiliser des souches de *Beauveria* dans la lutte contre les mouches des fruits. La même démarche pourrait être entreprise envers *O. palus*. Il en est de même à propos de l'utilisation d'extraits de plantes endémiques (Piperaceae) qui ont révélé une efficacité insecticide vis-à-vis de *Bactrocera cucurbitae* (Dorla et al, soumis) et qui pourrait présenter un intérêt dans la lutte biologique contre *O. palus*.

La gestion des habitats, troisième pilier de la PAEC, peut être réalisée par l'insertion de plantes pièges d'*O. palus* sur lesquelles les populations peuvent être gérées, ou bien de plantes refuges pour les ennemis naturels (Easterbrook and Tooley 1999 ; Accinelli et al. 2005 ; Shelton and Badenes-Perez 2006 ; Deguine et al. 2016). L'implantation en inter-rang de plantes pièges pour les mirides est utilisée dans diverses cultures, particulièrement pour la gestion des mirides du cotonnier en Afrique et aux Etats-Unis (Mensah and Khan 1997 ; Mert et al. 2001 ; Lu et al. 2009). Le cas du Pois d'Angole (*Cajanus cajan* L.) a précédemment été cité comme plante refuge d'ennemis naturels comme *Nesidiocoris volucer*. On peut remarquer qu'au Mexique, des associations de type manguiers - pois d'Angole sont pratiqués avec succès

sur le plan agronomique (augmentation du rendement des manguiers). De telles pratiques pourraient s'accompagner d'une régulation des punaises par les ennemis naturels présents sur la légumineuse (Agreda et al. 2006).

Par ailleurs, la bonne gestion des itinéraires techniques de production du manguiier (pratiques culturales, gestion de l'enherbement, etc.) est également un gage de limitation des attaques de certains bioagresseurs, notamment d'*O. palus*. L'influence de la variété cultivée est importante à prendre en compte dans la gestion des populations d'*O. palus* et de ses dégâts possibles. Une parcelle de variété Cogshall (qui réalise un seul flush de floraison par an) subissant une attaque de la Punaise du manguiier, peut présenter des dégâts importants, alors qu'une parcelle de variété José, qui fleurit habituellement en deux ou trois flushs entre juin et novembre, peut compenser lors de la deuxième ou troisième floraison, d'éventuels dégâts survenus sur la première floraison.

Enfin, en suivant la stratégie phytosanitaire de la PAEC, en tout dernier ressort et si nécessaire, la mise en œuvre d'une méthode curative par l'utilisation d'insecticides de synthèse peut être envisagée. Elle aurait lieu après une évaluation précise des risques via la détermination du niveau d'infestation de la parcelle. Un traitement localisé sur les arbres infestés peut s'envisager si les niveaux de populations dépassent un seuil d'intervention (cf. Introduction générale-Modèle d'étude-*Orthops palus*). Le seuil qui existe aujourd'hui n'est pas adapté et devrait être réévalué dans divers contextes. Il conviendrait d'évaluer la corrélation entre la densité de punaises par inflorescence et l'intensité de dégâts dans plusieurs vergers de manguiers, répartis dans les diverses zones de production de l'île (Sud, Ouest, Nord-Ouest). Par ailleurs, il faut souligner que la seule matière active actuellement homologuée sur le manguiier, la lambda-cyhalothrine, dont aucune étude n'a mesuré véritablement l'efficacité sur *O. palus*, a des effets collatéraux sur la faune auxiliaire, ce qui rend cette pratique de la lutte chimique non satisfaisante.

Les recommandations de gestion agroécologique des populations d'*O. palus*, qui sont précisées ci-dessus, sont les premières émises pour cet insecte et sont fondées sur cette démarche innovante de protection agroécologique des cultures. Elles peuvent servir de référence, non seulement pour le cas d'*O. palus* sur le manguiier, mais aussi pour d'autres mirides s'attaquant à des cultures fruitières tropicales.

Par ailleurs, pour accompagner les praticiens dans leurs observations de terrain, nous avons mis au point des outils d'aide au transfert, qui sont désormais disponibles et opérationnels. A cet égard, la fiche de reconnaissance de terrain qui présente, en recto, les 13 espèces de mirides des vergers de manguiers et, en verso, une description et des outils pour mieux reconnaître les trois espèces les plus présentes sur les inflorescences, se révélera fort utile en milieu producteur.

Enfin, les résultats acquis dans la thèse sur *O. palus* et les recommandations de gestion agroécologique de ses populations vont être intégrés, à partir de l'année universitaire 2015-2016, dans le contenu du CUQP (Certificat Universitaire de Qualification Professionnelle) "Protection agroécologique des cultures", formation diplômante dispensée par un consortium de partenaires (de la Recherche, de l'Expérimentation, du Conseil et du Développement) et délivrée par l'Université de La Réunion à l'attention des professionnels (agriculteurs, techniciens, conseillers, enseignants agricoles).

Références

- Accinelli, G., Lanzoni, A., Ramilli, F., Dradi, D., Burgio, G., 2005. Trap crop: an agroecological approach to the management of *Lygus rugulipennis* on lettuce. *Bull. Insectology* 58, 9–14.
- Agreda, F.M., Pohlan, J., Janssens, M.J., 2006. Effects of Legumes Intercropped in Mango Orchards in the Soconusco, Chiapas, Mexico, Conference on International Agricultural Research for Development, Bonn, Allemagne.
- Amouroux, P., Normand, F., Delatte, H., Roques, A., Nibouche, S., 2014. Diapause incidence and duration in the pest mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Felt), on Reunion Island. *Bull. Entomol. Res.* 104, 661–670. doi:10.1017/S0007485314000480
- Amouroux, P., Normand, F., Nibouche, S., Delatte, H., 2013. Invasive mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Felt) (Diptera: Cecidomyiidae) in Reunion Island: ecological plasticity, permanent and structured populations. *Biol. Invasions* 15, 1677–1693. doi:10.1007/s10530-012-0400-0
- Bale, J.S., Hayward, S.A.L., 2010. Insect overwintering in a changing climate. *J. Exp. Biol.* 213, 980–994. doi:10.1242/jeb.037911
- Bancroft, J.S., 2009. Dispersal and Abundance of *Lygus hesperus* in Field Crops. *Environ. Entomol.* 1517–1523. doi:10.1603/0046-225X-34.6.1517
- Behmer, S.T., 2009. Insect Herbivore Nutrient Regulation. *Annu. Rev. Entomol.* 54, 165–187. doi:10.1146/annurev.ento.54.110807.090537
- Bernays, E.A., 2001. NEURAL LIMITATIONS IN PHYTOPHAGOUS INSECTS: Implications for Diet Breadth and Evolution of Host Affiliation. *Annu. Rev. Entomol.* 46, 703–727. doi:10.1146/annurev.ento.46.1.703
- Bernays, E.A., 1982. The insect on the plant-a closer look., in: Proceedings of the 5. International Symposium on Insect-Plant Relationships. Wageningen (Netherlands). 1-4 Mar 1982.
- Bernays, E.A., Chapman, R.F., 2007. Host-Plant Selection by Phytophagous Insects. Springer Science & Business Media.
- Bernays, E.A., Minkenberg, O.P.J.M., 1997. Insect Herbivores: Different Reasons for Being a Generalist. *Ecology* 78, 1157–1169. doi:10.1890/0012-9658(1997)078[1157:IHDRFB]2.0.CO;2

- Blackmer, J.L., Canas, L.A., 2005. Visual cues enhance the response of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae) to volatiles from host plants. *Environ. Entomol.* 34, 1524–1533.
- Bradley, J.R., 1993. Influence of habitat on the pest status and management of *Heliothis* species on cotton in the southern United States, in: *Evolution of Insect Pests: Patterns of Variation*. New York, pp. 375–91.
- Brandenburg, R.L., Kennedy, G.G., 1982. Intercrop Relationships and Spider Mite Dispersal in a Corn/Peanut Agro-Ecosystem. *Entomol. Exp. Appl.* 32, 269–276. doi:10.1111/j.1570-7458.1982.tb03217.x
- Brazzle, J.R., Heinz, K.M., Parrella, M.P., 1997. Multivariate Approach to Identifying Patterns of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) Infesting Cotton. *Environ. Entomol.* 26, 995–1003. doi:10.1093/ee/26.5.995
- Brent, C.S., 2015. Diapause response to photoperiod in an Arizona population of *Lygus hesperus*. *J. Entomol. Sci.* 50, 238–247.
- Brent, C.S., 2012. Classification of diapause status by color phenotype in *Lygus hesperus*. *J. Insect Sci.* 12, 136.
- Burgess, K.H., 1991. *Florivory: the ecology of flower feeding insects and their host plants*.
- Canzano, A.A., Jones, R.E., Seymour, J.E., 2003. Diapause termination in two species of tropical butterfly, *Euploea core* (Cramer) and *Euploea sylvestre* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae). *Aust. J. Entomol.* 42, 352–356. doi:10.1046/j.1440-6055.2003.00366.x
- Carrière, Y., Goodell, P.B., Ellers-Kirk, C., Larocque, G., Dutilleul, P., Naranjo, S.E., Ellsworth, P.C., 2012. Effects of Local and Landscape Factors on Population Dynamics of a Cotton Pest. *PLoS ONE* 7, e39862. doi:10.1371/journal.pone.0039862
- Caspi-Fluger, A., Inbar, M., Steinberg, S., Friedmann, Y., Freund, M., Mozes-Daube, N., Zchori-Fein, E., 2014. Characterization of the symbiont *Rickettsia* in the mirid bug *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Heteroptera: Miridae). *Bull. Entomol. Res.* 104, 681–688. doi:10.1017/S0007485314000492
- Chen, Z.C., Su, L., Ge, F., Su, J.W., 2010. Electroantennogram responses of the green leaf bug, *Lygus lucorum* Meyer-Dür (Hemiptera: Miridae), to sex pheromone analogs and plant volatiles. *Acta Entomol Sin* 53, 47–54.
- Chippendale, G.M., 1982. Insect Diapause, the Seasonal Synchronization of Life Cycles, and Management Strategies. *Entomol. Exp. Appl.* 31, 24–35. doi:10.1111/j.1570-7458.1982.tb03116.x

- Cooper, W.R., Spurgeon, D.W., 2010. Sweep net recapture of marked *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) adults after different release times in cotton. J. Cotton Sci. 14, 131–137.
- Danks, H.V., 1978. Modes of seasonal adaptation in the insects: I. Winter survival. Can. Entomol. 110, 1167–1205. doi:10.4039/Ent1101167-11
- Deguine, J.-P., Atiama-Nurbel, T., Aubertot, J.-N., Augusseau, X., Atiama, M., Jacquot, M., Reynaud, B., 2015. Agroecological management of cucurbit-infesting fruit fly: a review. Agron. Sustain. Dev. 35, 937–965. doi:10.1007/s13593-015-0290-5
- Deguine, J.P., Gloanec, C., Laurent, P., Ratnadass, A., Aubertot, J.N., 2016. Protection agroécologique des cultures, Edition Quae. ed. Deguine J.-P., Gloanec C., Laurent P., Ratnadass A., Aubertot J.-N., Versailles.
- Demirel, N., Cranshaw, W., Norton, A., 2005. Survey of *Lygus* spp. and an associated parasitoid, *Leiophron uniformis* (Gahan), in Colorado. Southwest. Entomol. 30, 9–15.
- Denlinger, D.L., 1986. Dormancy in Tropical Insects. Annu. Rev. Entomol. 31, 239–264. doi:10.1146/annurev.en.31.010186.001323
- Dingle, H., 1978. Migration and Diapause in Tropical, Temperate, and Island Milkweed Bugs, in: Dingle, H. (Ed.), Evolution of Insect Migration and Diapause. Springer US, New York, NY, pp. 254–276.
- Dixon, A.F.G., 1987. Way of life of aphids: host specificity, speciation and distribution, in: Aphids: Their Biology, Natural Enemies, and Control. A.K. Minks and P. Harrewijn, Amsterdam, pp. 197–207.
- Dong, J.-W., Pan, H.-S., Lu, Y.-H., Yang, Y.-Z., 2013. Nymphal performance correlated with adult preference for flowering host plants in a polyphagous mirid bug, *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae). Arthropod-Plant Interact. 7, 83–91. doi:10.1007/s11829-012-9222-3
- Dong-Soon, K., Cho, M.-R., Lee, J.-H., Jeon, H.-Y., Choi, Y.-M., 2002. Seasonal Migration of *Apolygus spinolae* (Hemiptera: Miridae) between Grapevines and Herbaceous Plants. J. Asia-Pac. Entomol. 5, 91–95. doi:10.1016/S1226-8615(08)60136-3
- Dorla, E., Bialecki, A., Allibert, A., Grondin, I., Deguine, J.-P., Laurent, P., soumis. Insecticidal activity of the essential oil of *Peperomia borbonensis* Miq. (Piperaceae) and its major components against the melon fly *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett.) (Diptera: Tephritidae). J. of Agri. and Food Chemistry.

- Easterbrook, M.A., Tooley, J.A., 1999. Assessment of trap plants to regulate numbers of the European tarnished plant bug, *Lygus rugulipennis*, on late-season strawberries. *Entomol. Exp. Appl.* 92, 119–125.
- Esquivel, J.F., Mowery, S.V., 2007. Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in Central Texas. *Environ. Entomol.* 36, 725–730. doi:10.1603/0046-225X(2007)36[725:HPOTTP]2.0.CO;2
- Etienne, J., Roura, A., 1974. Note sur l'entomofaune des manguiers à la Réunion, in: Rapport Annuel de l'IRAT. IRAT, Saint-Denis, La Réunion, pp. 89–92.
- Feeny, P., 1975. Biochemical coevolution between plants and their insect herbivores. *Coevol. Anim. Plants Univ. Tex. Press Austin* 13, 6.
- Fleischer, S.J., Gaylor, M.J., Dickens, R., Turner, D.L., 1989. Roadside Management of Annual Fleabane (*Erigeron annuus*) and Wild Carrot (*Daucus carota*). *Weed Technol.* 3, 72–75.
- Fox, L. a, Morrow, P.A., 1981. Specialization: species property or local phenomenon. *Science* 211, 887–893.
- Franzke, A., Unsicker, S.B., Specht, J., Köhler, G., Weisser, W.W., 2010. Being a generalist herbivore in a diverse world: how do diets from different grasslands influence food plant selection and fitness of the grasshopper *Chorthippus parallelus*? *Ecol. Entomol.* 35, 126–138. doi:10.1111/j.1365-2311.2009.01168.x
- Geng, H., Pan, H., Lu, Y., Yang, Y., 2012. Nymphal and adult performance of *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae) on a preferred host plant, mungbean *Vigna radiata*. *Appl. Entomol. Zool.* 47, 191–197. doi:10.1007/s13355-012-0107-9
- Gronquist, M., Bezzerides, A., Attygalle, A., Meinwald, J., Eisner, M., Eisner, T., 2001. Attractive and defensive functions of the ultraviolet pigments of a flower (*Hypericum calycinum*). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98, 13745–13750. doi:10.1073/pnas.231471698
- Hagler, J.R., Jones, V.P., 2010. A protein-based approach to mark arthropods for mark-capture type research. *Entomol. Exp. Appl.* 135, 177–192. doi:10.1111/j.1570-7458.2010.00980.x
- Hahn, D.A., Denlinger, D.L., 2011. Energetics of Insect Diapause. *Annu. Rev. Entomol.* 56, 103–121. doi:10.1146/annurev-ento-112408-085436
- Harbaugh, D.T., Wagner, W.L., Allan, G.J., Zimmer, E.A., 2009. The Hawaiian Archipelago is a stepping stone for dispersal in the Pacific: an example from the plant genus *Melicope* (Rutaceae). *J. Biogeogr.* 36, 230–241. doi:10.1111/j.1365-2699.2008.02008.x

- Harris, V.E., Todd, J.W., Mullinix, B.G., 1984. Color change as an indicator of adult diapause in the southern green stink bug, *Nezara viridula*. J. Agric. Entomol. 1, 82–91.
- Held, D.W., Potter, D.A., 2003. Characterizing Toxicity of *Pelargonium* spp. and Two Other Reputedly Toxic Plant Species to Japanese beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). Environ. Entomol. 32, 873–880. doi:10.1603/0046-225X-32.4.873
- Hereward, J.P., Walter, G.H., DeBarro, P.J., Lowe, A.J., Riginos, C., 2013. Gene flow in the green mirid, *Creontiades dilutus* (Hemiptera: Miridae), across arid and agricultural environments with different host plant species. Ecol. Evol. 3, 807–821. doi:10.1002/ece3.510
- Hilgenboecker, K., Hammerstein, P., Schlattmann, P., Telschow, A., Werren, J.H., 2008. How many species are infected with *Wolbachia*? – a statistical analysis of current data. Fems Microbiol. Lett. 281, 215–220. doi:10.1111/j.1574-6968.2008.01110.x
- Hiroki, M., Kato, Y., Kamito, T., Miura, K., 2002. Feminization of genetic males by a symbiotic bacterium in a butterfly, *Eurema hecabe* (Lepidoptera: Pieridae). Naturwissenschaften 89, 167–170. doi:10.1007/s00114-002-0303-5
- Hodkinson, I.D., 2005. Terrestrial insects along elevation gradients: species and community responses to altitude. Biol. Rev. 80, 489–513. doi:10.1017/S1464793105006767
- Holopainen, J.K., Varis, A.-L., 1991. Host plants of the European tarnished plant bug *Lygus rugulipennis* Poppius (Het., Miridae). J. Appl. Entomol. 111, 484–498. doi:10.1111/j.1439-0418.1991.tb00351.x
- Ingrisch, S., 1987. Oxygen consumption by developing and diapausing eggs of *Eupholidoptera smyrnensis* (Orthoptera: Tettigoniidae). J. Insect Physiol. 33, 861–865.
- Insa, G., Rossolin, G., Vincenot, D., 2002. La Mangue - Dossier Technico-Economique, 2nd ed. Chambre d'agriculture de La Réunion, Saint-Pierre, La Réunion.
- Jackson, R.E., Allen, K.C., Snodgrass, G.L., Krutz, L.J., Gore, J., Perera, O.P., Price, L.D., Mullen, R.M., 2014. Influence of Maize and Pigweed on Tarnished Plant Bug (Hemiptera: Miridae) Populations Infesting Cotton. Southwest. Entomol. 39, 391–400. doi:10.3958/059.039.0301
- Jacquard, C., Virgilio, M., David, P., Quilici, S., De Meyer, M., Delatte, H., 2013. Population structure of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, in Reunion Island. Biol. Invasions 15, 759–773. doi:10.1007/s10530-012-0324-8
- Janssen, T., Bystrakova, N., Rakotondrainibe, F., Coomes, D., Labat, J.-N., Schneider, H., 2008. Neoendemism in Madagascan Scaly Tree Ferns Results from Recent,

- Coincident Diversification Bursts. *Evolution* 62, 1876–1889. doi:10.1111/j.1558-5646.2008.00408.x
- Jiggins, F.M., Schulenburg, J.H.G. von der, Hurst, G.D.D., Majerus, M.E.N., 2001. Recombination confounds interpretations of *Wolbachia* evolution. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 268, 1423–1427. doi:10.1098/rspb.2001.1656
- Joachim-Bravo, I.S., Zucoloto, F.S., 1997. Oviposition preference and larval performance in *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). *Rev. Bras. Zool.* 14, 795–802. doi:10.1590/S0101-81751997000400004
- Jones, R.E., 1987. Reproductive strategies for the seasonal tropics. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 8, 515–521. doi:10.1017/S1742758400022566
- Kain, D.P., Agnello, A.M., 2013. Relationship Between Plant Phenology and *Campylomma verbasci* (Hemiptera: Miridae) Damage to Apple Fruit. *Environ. Entomol.* 42, 307–313. doi:10.1603/EN12309
- Kemp, D.J., 2001. Reproductive seasonality in the tropical butterfly *Hypolimnys bolina* (Lepidoptera: Nymphalidae) in northern Australia. *J. Trop. Ecol.* 17, 483–494.
- Kennedy, G.G., Storer, N.P., 2000. Life systems of polyphagous arthropod pests in temporally unstable cropping systems. *Annu. Rev. Entomol.* 45, 467–493. doi:10.1146/annurev.ento.45.1.467
- Kevan, P.G., Baker, H.G., 1983. Insects as Flower Visitors and Pollinators. *Annu. Rev. Entomol.* 28, 407–453. doi:10.1146/annurev.en.28.010183.002203
- Kikuchi, Y., Fukatsu, T., 2003. Diversity of *Wolbachia* Endosymbionts in Heteropteran Bugs. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 6082–6090. doi:10.1128/AEM.69.10.6082-6090.2003
- Kimura, M., Weiss, G.H., 1964. The Stepping Stone Model of Population Structure and the Decrease of Genetic Correlation with Distance. *Genetics* 49, 561–576.
- Kobayashi, S., Numata, H., 1995. Effects of Temperature and Photoperiod on the Induction of Diapause and the Determination of Body Coloration in the Bean Bug, *Riptortus clavatus*. *Zoolog. Sci.* 12, 343–348. doi:10.2108/zsj.12.343
- Kotaki, T., 1998. Effects of low temperature on diapause termination and body colour change in adults of a stink bug, *Plautia stali*. *Physiol. Entomol.* 23, 53–61. doi:10.1046/j.1365-3032.1998.2310053.x
- Kullenberg, B., 1944. Studien über die Biologie der Capsiden, Zoologiska Bidrag Uppsala. ed. Almqvist & Wiksell, Uppsala.
- Kumar, A., Musser, F.R., 2009. Intra and inter-crop movement of tarnished plant bugs, in: Beltwide Cotton Conference, San Antonio, TX. pp. 852–856.

- Lee, K.P., Spencer T. Behmer, Stephen J. Simpson, 2006. Nutrient regulation in relation to diet breadth: a comparison of *Heliothis* sister species and a hybrid. J. Exp. Biol. 209, 2076–2084. doi:10.1242/jeb.02253
- Liu, Z., Scheirs, J., Heckel, D.G., 2010. Host Plant Flowering Increases Both Adult Oviposition Preference and Larval Performance of a Generalist Herbivore. Environ. Entomol. 39, 552–560. doi:10.1603/EN09129
- Lu, Y.H., Wu, K.M., 2008. Biology and control of cotton mirids, Golden Shield Press. ed. Beijing, China.
- Lu, Y.H., Wu, K.M., Wyckhuys, K.A.G., Guo, Y.Y., 2009. Potential of mungbean, *Vigna radiatus* as a trap crop for managing *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae) on Bt cotton. Crop Prot. 28, 77–81. doi:10.1016/j.cropro.2008.08.018
- MacArthur, R.H., Wilson, E.O., 1967. Theory of Island Biogeography. Princeton University Press, USA.
- Machtelinckx, T., Van Leeuwen, T., Van De Wiele, T., Boon, N., De Vos, W.H., Sanchez, J.-A., Nannini, M., Gheysen, G., De Clercq, P., 2012. Microbial community of predatory bugs of the genus *Macrolophus* (Hemiptera: Miridae). BMC Microbiol. 12, S9. doi:10.1186/1471-2180-12-S1-S9
- Matter, S.F., Landry, J.B., Greco, A.M., LaCourse, C.D., 1999. Importance of Floral Phenology and Florivory for *Tetraopes tetraophthalmus* (Coleoptera: Cerambycidae): Tests at the Population and Individual Level. Environ. Entomol. 28, 1044–1051. doi:10.1093/ee/28.6.1044
- McGuire, M.R., Leland, J.E., Dara, S., Park, Y.-H., Ulloa, M., 2006. Effect of different isolates of *Beauveria bassiana* on field populations of *Lygus hesperus*. Biol. Control 38, 390–396. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.12.010
- Mensah, R.K., Khan, M., 1997. Use of *Medicago sativa* (L.) interplantings/trap crops in the management of the green mirid, *Creontiades dilutus* (Stal) in commercial cotton in Australia. Int. J. Pest Manag. 43, 197–202.
- Mert, B.R., Hellqvist, S., Ekbohm, B., Banks, J.E., 2001. Assessment of trap crops for *Lygus* spp. in lettuce. Int. J. Pest Manag. 47, 273–276. doi:10.1080/09670870110047127
- Mody, K., Unsicker, S.B., Linsenmair, K.E., 2007. Fitness Related Diet-Mixing by Intraspecific Host-Plant-Switching of Specialist Insect Herbivores. Ecology 88, 1012–1020. doi:10.1890/06-1338

- Musolin, D.L., Fujisaki, K., Numata, H., 2007. Photoperiodic control of diapause termination, colour change and postdiapause reproduction in the southern green stink bug, *Nezara viridula*. *Physiol. Entomol.* 32, 64–72. doi:10.1111/j.1365-3032.2006.00542.x
- Musolin, D.L., Numata, H., 2004. Late-season induction of diapause in *Nezara viridula* and its effect on adult coloration and post-diapause reproductive performance. *Entomol. Exp. Appl.* 111, 1–6. doi:10.1111/j.0013-8703.2004.00137.x
- Niva, C.C., Takeda, M., 2002. Color changes in *Halyomorpha brevis* (Heteroptera: Pentatomidae) correlated with distribution of pteridines: regulation by environmental and physiological factors. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 132, 653–660.
- Pack, T.M., Tugwell, P., 1976. Clouded and tarnished plant bugs on cotton: a comparison of injury symptoms and damage on fruit parts. University of Arkansas.
- Pan, H., Liu, B., Lu, Y., Wyckhuys, K.A.G., 2015. Seasonal Alterations in Host Range and Fidelity in the Polyphagous Mirid Bug, *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae). *PLoS ONE* 10. doi:10.1371/journal.pone.0117153
- Pan, H., Lu, Y., Wyckhuys, K.A.G., 2013a. Early-Season Host Switching in *Adelphocoris* spp. (Hemiptera: Miridae) of Differing Host Breadth. *PLoS ONE* 8, e59000. doi:10.1371/journal.pone.0059000
- Pan, H., Lu, Y., Wyckhuys, K.A.G., Wu, K., 2013b. Preference of a Polyphagous Mirid Bug, *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) for Flowering Host Plants. *PLoS ONE* 8, e68980. doi:10.1371/journal.pone.0068980
- Pellmyr, O., Thien, L.B., 1986. Insect Reproduction and Floral Fragrances: Keys to the Evolution of the Angiosperms? *Taxon* 35, 76–85. doi:10.2307/1221036
- Pieloor, M.J., Seymour, J.E., 2001. Factors affecting adult diapause initiation in the tropical butterfly *Hypolimnas bolina* L. (Lepidoptera: Nymphalidae). *Aust. J. Entomol.* 40, 376–379. doi:10.1046/j.1440-6055.2001.00242.x
- Poinsot, D., Charlat, S., Merçot, H., 2003. On the mechanism of Wolbachia-induced cytoplasmic incompatibility: Confronting the models with the facts. *BioEssays* 25, 259–265. doi:10.1002/bies.10234
- Poisot, T., Bever, J.D., Nemri, A., Thrall, P.H., Hochberg, M.E., 2011. A conceptual framework for the evolution of ecological specialisation. *Ecol. Lett.* 14, 841–851. doi:10.1111/j.1461-0248.2011.01645.x
- Portilla, M., Snodgrass, G., Luttrell, R., Jaronski, S., 2014. A novel bioassay to evaluate the potential of *Beauveria bassiana* strain NI8 and the insect growth regulator novaluron

- against *Lygus lineolaris* on a non-autoclaved solid artificial diet. J. Insect Sci. 14, 115. doi:10.1093/jis/14.1.115
- Pullin, A., Bale, J., 1989. Influence of diapause and temperature on cryoprotectant synthesis and cold hardiness in pupae of *Pieris brassicae*. Comp. Biochem. Physiol. A Physiol. 94, 499–503. doi:10.1016/0300-9629(89)90128-X
- Rajapakse, C.N.K., Walter, G.H., 2007. Polyphagy and primary host plants: oviposition preference versus larval performance in the lepidopteran pest *Helicoverpa armigera*. Arthropod-Plant Interact. 1, 17–26. doi:10.1007/s11829-007-9003-6
- Ratnadass, A., Rabo, Y., Salha, H., Matocq, A., Doumma, A., 2012. *Gynandropsis gynandra* (Capparidaceae) citee pour la premiere fois comme hote d'*Eurystylus* spp.(Hemiptera, Miridae). Bull. Soc. Entomol. Fr. 117, 115–118.
- Raubenheimer, D., Jones, S.A., 2006. Nutritional imbalance in an extreme generalist omnivore: tolerance and recovery through complementary food selection. Anim. Behav. 71, 1253–1262. doi:10.1016/j.anbehav.2005.07.024
- Santos, J.C., Silveira, F.A.O., Fernandes, G.W., 2008. Long term oviposition preference and larval performance of *Schizomyia macrocapillata* (Diptera: Cecidomyiidae) on larger shoots of its host plant *Bauhinia brevipes* (Fabaceae). Evol. Ecol. 22, 123–137. doi:10.1007/s10682-007-9162-z
- Saulich, A.K., Musolin, D.L., 1996. Univoltinism and its regulation in some temperate true bugs (Heteroptera). Eur J Entomol 93, 507–518.
- Schoonhoven, L.M., Loon, J.J.A. van, Dicke, M., 2005. Insect-plant biology xvii + 421 pp.
- Sevacherian, V., Stern, V.M., 1975. Movements of *Lygus* Bugs Between Alfalfa and Cotton. Environ. Entomol. 4, 163–165. doi:10.1093/ee/4.1.163
- Sevacherian, V., Stern, V.M., 1972. Spatial Distribution Patterns of *Lygus* Bugs in California Cotton Fields. Environ. Entomol. 1, 695–704. doi:10.1093/ee/1.6.695
- Seymour, J.E., 1991. Aspects of the ecology of *Microgaster demolitor*, a larval parasitoid of *Helicoverpa punctigera* and *Helicoverpa armigera* in Australia (phd). James Cook University.
- Seymour, J.E., Jones, R.E., 2000. Humidity-terminated diapause in the tropical braconid parasitoid *Microplitis demolitor*. Ecol. Entomol. 25, 481–485. doi:10.1046/j.1365-2311.2000.00272.x
- Shelton, A.M., Badenes-Perez, F.R., 2006. Concepts and applications of trap cropping in pest management. Annu Rev Entomol 51, 285–308.

- Sholes, O.D.V., 1984. Responses of Arthropods to the Development of Goldenrod Inflorescences (Solidago: Asteraceae). Am. Midl. Nat. 112, 1–14. doi:10.2307/2425450
- Simpson, S.J., Simpson, C.L., 1990. The mechanisms of nutritional compensation by phytophagous insects. Insect-Plant Interact. 2, 111–160.
- Singer, M.C., 1983. Determinants of Multiple Host Use by a Phytophagous Insect Population. Evolution 37, 389–403. doi:10.2307/2408346
- Smallegange, R.C., van Loon, J.J.A., Blatt, S.E., Harvey, J.A., Agerbirk, N., Dicke, M., 2007. Flower vs. Leaf Feeding by *Pieris brassicae*: Glucosinolate-Rich Flower Tissues are Preferred and Sustain Higher Growth Rate. J. Chem. Ecol. 33, 1831–1844. doi:10.1007/s10886-007-9350-x
- Snodgrass, G.L., Scott, W.P., Abel, C.A., Robbins, J.T., Gore, J., Hardee, D.D., 2006. Suppression of Tarnished Plant Bugs (Heteroptera: Miridae) in Cotton by Control of Early Season Wild Host Plants with Herbicides. Environ. Entomol. 35, 1417–1422. doi:10.1093/ee/35.5.1417
- Snodgrass, G.L., Scott, W.P., Smith, J.W., 1984. An annotated list of the host plants of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) in the Arkansas, Louisiana, and Mississippi delta [Tarnished plant bug]. J. Ga. Entomol. Soc. USA.
- Southwood, T.R.E., 1977. Habitat, the Templet for Ecological Strategies? J. Anim. Ecol. 46, 337–365. doi:10.2307/3817
- Spurgeon, D.W., 2009. Using marked *Lygus hesperus* (Knight) (Hemiptera: Miridae) adults to evaluate sweep net sampling in cotton. J. Cotton Sci. 13, 196–205.
- Spurgeon, D.W., Brent, C.S., 2010. Morphological characters of diapause in *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae). J. Entomol. Sci. 45, 303.
- Stouthamer, R., Breeuwer, J.A.J., Hurst, G.D.D., 1999. *Wolbachia pipientis*: Microbial Manipulator of Arthropod Reproduction. Annu. Rev. Microbiol. 53, 71–102. doi:10.1146/annurev.micro.53.1.71
- Sudbrink, D.L., Grant, J.F., 1995. Wild host plants of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in eastern Tennessee. Environ. Entomol. 24, 1080–1085.
- Tanaka, S., 1987. Changing responses to temperature and moisture of diapausing and developing eggs of *Allonemobius fasciatus* (Orthoptera: Gryllidae). J. Insect Physiol. 33, 635–641.
- Tanaka, S., Delinger, D.L., Wolda, H., 1987. Daylength and humidity as environmental cues for diapause termination in a tropical beetle. Physiol. Entomol. 12, 213–224.

- Tauber, C.A., Tauber, M.J., 1981. Insect Seasonal Cycles: Genetics and Evolution. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 12, 281–308. doi:10.1146/annurev.es.12.110181.001433
- Tauber, M.J., Tauber, C.A., Masaki, S., 1986. *Seasonal Adaptations of Insects*. Oxford University Press, New York, NY.
- Taylor, T.H.C., 1947. Some East African species of *Lygus*, with notes on their host plants. *Bull. Entomol. Res.* 38, 233–258.
- Thébaud, C., Warren, B.H., Strasberg, D., Cheke, A., 2009. Mascarene islands, biology, in: *Encyclopedia of Islands*. Gillespie R.G., Clague, D.A., pp. 612–619.
- Thompson, J.N., 1983. The Use of Ephemeral Plant Parts on Small Host Plants: How *Depressaria leptotaeniae* (Lepidoptera: Oecophoridae) Feeds on *Lomatium dissectum* (Umbelliferae). *J. Anim. Ecol.* 52, 281–291. doi:10.2307/4600
- Tong YaJuan, Wu KongMing, Lu YanHui, Gao XiWu, 2010. Pathogenicity of *Beauveria* spp. strains to three species of mirids, *Apolygus lucorum*, *Adelphocoris suturalis* and *Adelphocoris lineolatus*. *Acta Phytophylacica Sin.* 37, 172–176.
- Unsicker, S.B., Oswald, A., Köhler, G., Weisser, W.W., 2008. Complementarity effects through dietary mixing enhance the performance of a generalist insect herbivore. *Oecologia* 156, 313–324. doi:10.1007/s00442-008-0973-6
- Vandekerckhove, T., Watteyne, S., Bonne, W., Vanacker, D., Devaere, S., Rumes, B., Maelfait, J.-P., Gillis, M., Swings, J., Braig, H., Braig, H., 2003. Evolutionary trends in feminization and intersexuality in woodlice (Crustacea, Isopoda) infected with *Wolbachia pipientis* (alpha-Proteobacteria). *Belg J Zool* 133 (1), 61–69.
- Velasco, L.R.I., Walter, G.H., 1993. Potential of Host-Switching in *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) To Enhance Survival and Reproduction. *Environ. Entomol.* 22, 326–333. doi:10.1093/ee/22.2.326
- Velasco, L.R.I., Walter, G.H., Harris, V.E., 1995. Voltinism and host plant use by *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) in Southeastern Queensland. *Aust. J. Entomol.* 34, 193–203.
- Vincenot, D., Normand, F., 2009. *Guide de production intégrée de mangues à La Réunion*, Cirad – Chambre d’Agriculture de La Réunion. ed. Vincenot D.; Normand, F., Saint-Pierre, Reunion.
- Waldbauer, G.P., Friedman, S., 1991. Self-Selection of Optimal Diets by Insects. *Annu. Rev. Entomol.* 36, 43–63. doi:10.1146/annurev.en.36.010191.000355
- Wheeler, A.G.J., 2001. *Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists*. Cornell University Press, Ithaca, NY.

- Whittaker, R.H., 1975. *Communities and Ecosystems*, Macmillan. ed. New-York.
- Williams, L., Logarzo, G.A., Shaw, S.R., Price, L.D., Manrique, V., 2003. *Leiophron argentinensis* Shaw (Hymenoptera: Braconidae): A New Species of Parasitoid from Argentina and Paraguay—Information on Life History and Potential for Controlling *Lygus* Bugs (Hemiptera: Miridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 96, 834–846. doi:10.1603/0013-8746(2003)096[0834:LASHBA]2.0.CO;2
- Womack, C.L., Schuster, M.F., 1987. Host Plants of the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae) in the Northern Blackland Prairies of Texas. *Environ. Entomol.* 16, 1266–1272. doi:10.1093/ee/16.6.1266
- Wu, G.Q., Xiao, L.B., Tang, Y.A., Sun, Y., Bai, L.X., 2012. Relative preferences of *Apolygus lucorum* adults for six host species and their volatiles. *Chin J Appl Entomol* 49, 641–647.
- Young, O.P., 1986. Host Plants of the Tarnished Plant Bug, *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79, 747–762.
- Zug, R., Hammerstein, P., 2012. Still a host of hosts for *Wolbachia*: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. *PloS One* 7, e38544. doi:10.1371/journal.pone.0038544

Conclusion générale

Au début des années 2010, *Orthops palus*, fautivement appelée *Lygus palus* ou *Taylorilygus palus*, et dénommée "Punaise du manguier " sur le terrain, était considérée comme le ravageur numéro un du manguier à La Réunion et très peu de connaissances étaient disponibles sur cet insecte. La présente étude a permis d'acquérir des connaissances sur sa taxonomie, sur sa bioécologie et sur sa diversité génétique. A ce titre, la thèse représente une contribution scientifique significative puisqu'elle apporte la plupart des connaissances disponibles aujourd'hui dans la littérature sur *O. palus*. Ces connaissances font d'ailleurs aujourd'hui d'*O. palus*, une des espèces de mirides les plus étudiées en cultures fruitières tropicales, si l'on s'en réfère à la synthèse bibliographique proposée au début du manuscrit.

La démarche scientifique engagée dans la thèse a mobilisé différentes disciplines scientifiques et outils : la taxonomie pour l'identification des espèces de mirides ; la biologie pour l'étude du cycle de vie d'*O. palus* ; l'écologie pour l'étude des interactions entre *O. palus* et ses plantes hôtes ; la génétique pour l'étude de la diversité génétique et de la structuration des populations.

Les principaux résultats de la thèse sont les suivants. La miridofaune des vergers de manguiers a été étudiée et, parmi les 13 espèces de mirides recensées, *O. palus* est l'espèce la plus abondante sur les inflorescences du manguier lors de sa floraison. Pour identifier *O. palus* au laboratoire et la reconnaître sur le terrain, trois outils originaux ont été construits (une clé d'identification, des séquences du Cytochrome c Oxydase I et une fiche de reconnaissance sur le terrain).. Un élevage d'*O. palus* a été mis au point ; il a permis de caractériser son cycle biologique et de mesurer les durées des stades de développement. L'inventaire des plantes hôtes d'*O. palus* (15 espèces à La Réunion) a montré que c'est une espèce polyphage et qu'elle est surtout une "Punaise des fleurs", susceptible de passer l'année, en se déplaçant, selon la disponibilité des ressources alimentaires, de plante en fleur à plante en fleur. Les études sur la diversité et la structuration génétique d'*O. palus* dans les îles du SOOI ont apporté des résultats importants. A La Réunion, les populations sont structurées en deux populations, sans facteur structurant identifié. A Maurice, une seule population est recensée. Elle est différente et moins diversifiée (hétérozygotie et leur richesse allélique) que celles de La Réunion. . Aucune race d'hôte n'a été mise en évidence, ni à La Réunion, ni à Maurice. Des flux de populations, dans les deux sens, ont été mis en évidence entre ces deux

îles,. Enfin, l'analyse de la diversité de l'ADN mitochondrial sur des individus prélevés sur quatre îles du SOOI (La Réunion, Maurice, Mayotte, Grande Comore) montre la présence d'au moins sept haplotypes dont la distribution confirme les échanges inter-îles.

La discussion générale de la thèse s'est concentrée sur des thématiques : l'évolution temporelle des populations et le passage de l'année à l'échelle des agroécosystèmes par l'espèce étudiée ; la dynamique spatiale et les flux de populations à l'échelle de la région SOOI.

A l'avenir, plusieurs perspectives de recherche, qu'il conviendrait d'engager pour poursuivre l'acquisition de connaissances sur *O. palus*, sont identifiées : l'étude des processus de dispersion des populations à l'échelle de l'agroécosystème ; l'étude de diverses caractéristiques bioécologiques (effet de facteurs biotiques et abiotiques sur la durée de développement des stades, préférence alimentaire entre les différentes plantes hôtes en cage ou au laboratoire) ; l'étude fine de certaines interactions insecte-plante (par exemple caractérisation et évaluation des dégâts) ; la mise au point de méthodologie (méthode de collecte des mirides sur les arbres, plan d'échantillonnage dans les vergers) ; l'évaluation de la présence et la diversité génétique d'*O. palus* dans les pays d'Afrique de l'Est, à Madagascar et dans les îles de Océan Indien (facteurs influençant la structuration génétique des populations, étude des chemins migratoires des populations dans la zone).

Enfin, à la lumière des résultats acquis dans la thèse, des propositions de gestion agroécologique des populations d'*O. palus* à mettre en place à l'échelle locale sont faites, et les mesures de précaution à prendre pour éviter les flux de populations entre les pays de l'Océan Indien pour éviter tout phénomène invasif, sont rappelées.

Annexes

Annexe 1

Espèces du genre *Orthops* (On-line Systematic Catalog of Plant Bugs (Insecta: Heteroptera: Miridae) : <http://research.amnh.org/pbi/catalog/names.php?genus=orthops>)

Espèces	Synonymes	Pays	Plantes hôtes ¹	Famille
<i>Orthops acaciae</i> (Lindberg, 1958)		Ile du Cap Vert	<i>Faidherbia albida</i> (Lindberg, 1958)	Fabaceae
<i>Orthops alpicola</i> (Poppius, 1910)		Meru (Afrique de l'Est)	non spécifié	
	<i>Orthops denigratus</i> (Poppius, 1910)	Meru (Afrique de l'Est)	non spécifié	
<i>Orthops basalis</i> (Costa, A., 1853)		Italie	<i>Quercus</i> sp (Gollner-Scheiding, 1970) espèce non spécifiée (Cmoluchowa and Lechowski, 1977)	Fagaceae
	<i>Orthops caucasicus</i> (Jakovlev, 1879)	Caucase		Apiaceae
	<i>Orthops intermedius</i> (Tamanini, 1951)	Italie	espèce non spécifiée (Josifov, 1974)	Apiaceae
	<i>Orthops tamaninii</i> (Stichel, 1958)	Caucase	<i>Umbellifera</i> (Gollner-Scheiding, 1972)	Apiaceae
	<i>Orthops testaceus</i> (Tamanini, 1951)	Italie		
<i>Orthops brevicornis</i> (Linnavuori, 1973)		Kenya	non spécifié	
<i>Orthops campestris</i> (Linnaeus, 1758)		Europe	<i>Ononis spinosa</i> (Gollner-Scheiding, 1970)	Fabaceae
	<i>Orthops algiricus</i> (Reuter, 1896)	Europe	<i>Quercus</i> sp. (Gollner-Scheiding, 1970)	Fagaceae
	<i>Orthops herbaceus</i> (Stichel, 1958)	Europe	<i>Salix</i> sp. (Gollner-Scheiding, 1970)	Salicaceae
	<i>Orthops imperfectus</i> (Stichel, 1958)	Europe	espèce non spécifiée (Josifov, 1974)	Apiaceae
	<i>Orthops lucidus</i> (Kirschbaum, 1856)	Europe	espèce non spécifiée (Knight, 1968)	Brassicaceae
	<i>Orthops pastinacae</i> (Fallen, 1807)	Suède	<i>Umbellifera</i> (Gollner-Scheiding, 1972)	Apiaceae
	<i>Orthops prasinus</i> (Stichel, 1930)	Europe		
	<i>Orthops reuteri</i> (Tamanini, 1951)	Europe		
	<i>Orthops stillatus</i> (Stichel, 1958)	Europe		
	<i>Orthops transversalis</i> (Fabricius, 1787)	Allemagne		
	<i>Orthops trimaculatus</i> (Tamanini, 1951)	Italie		
	<i>Orthops viridipallens</i> (Stichel, 1930)	Europe		
<i>Orthops daidalos</i> Linnavuori, 1974		Nigéria	non spécifié	
	<i>Orthops pindaros</i> Linnavuori, 1974	Nigéria	non spécifié	
<i>Orthops ferrugineus</i> (Reuter, 1906)		Allemagne	non spécifié	
	<i>Orthops thoracicus</i> (Westhoff, 1881)	Allemagne	non spécifié	
<i>Orthops forelii</i> Fieber, 1858		Suisse	<i>Pinus</i> sp. (Wagner, 1974)	Pinaceae
<i>Orthops ghaurii</i> Zheng, 2004		Xinjiang (Chine)	non spécifié	

Espèces	Synonymes	Pays	Plantes hôtes ¹	Famille
<i>Orthops kalmii</i> (Linnaeus, 1758)		Europe	<i>Cirsium hypoleucum</i> (Hoberlandt, 1956)	Asteraceae
	<i>Orthops bipartitus</i> (Stichel, 1958)	Europe	<i>Ferula nodiflora</i> (Pericart, 1965)	Apiaceae
	<i>Orthops conspicuus</i> (Stichel, 1958)	Europe	<i>Ononis spinosa</i> (Gollner-Scheiding, 1970)	Fabaceae
	<i>Orthops daldorfii</i> (Gmelin, 1790)	Allemagne	<i>Quercus</i> sp. (Gollner-Scheiding, 1970)	Fagaceae
	<i>Orthops fieberi</i> (Westhoff, 1881)	Allemagne	<i>Salix</i> sp. (Gollner-Scheiding, 1970)	Salicaceae
	<i>Orthops flavovarius</i> (Fabricius, 1794)	Danemark	espèce non spécifiée (Josifov, 1974)	Apiaceae
	<i>Orthops frenatus</i> (Horvath, 1894)	Caucase	espèce non spécifiée (Lindberg, 1961)	Brassicaceae
	<i>Orthops gramineus</i> (Fabricius, 1798)	Italie	<i>Umbellifera</i> (Gollner-Scheiding, 1972)	Apiaceae
	<i>Orthops luridus</i> (Westhoff, 1881)	Allemagne		
	<i>Orthops nigrovarius</i> (Stichel, 1958)	Europe		
	<i>Orthops orientalis</i> (Reuter, 1896)	Trancaucasie; Turkestan		
	<i>Orthops pauperatus</i> (Herrich-Schaeffer, 1837)	Europe		
	<i>Orthops pellucidus</i> Fieber, 1858	Suisse		
	<i>Orthops piceus</i> (Reuter, 1894)	Allemagne		
	<i>Orthops quadrimaculatus</i> (Stichel, 1958)	Europe		
	<i>Orthops ribis</i> (Schränk, 1801)	Allemagne		
	<i>Orthops singularis</i> (Fallen, 1829)	Suède		
	<i>Orthops tenuis</i> (Stichel, 1958)	Europe		
	<i>Orthops triplex</i> (Stichel, 1958)	Europe		
	<i>Orthops umbratilis</i> (Linnaeus, 1758)	Europe		
	<i>Orthops varius</i> (Fabricius, 1787)	Allemagne		
	<i>Orthops westhoffi</i> (Stichel, 1930)	Europe		
<i>Orthops lavandulae</i> (Lindberg, 1958)		Ile du Cap Vert	<i>Lavandula rotundifolia</i> (Lindberg, 1958)	Lamiaceae
<i>Orthops lugubris</i> (Poppius, 1914)		Victoria Nyanza (Afrique de l'Est)	non spécifié	
<i>Orthops meruensis</i> (Poppius, 1910)		Meru (Afrique de l'Est)	non spécifié	
<i>Orthops modestus</i> (Linnavuori, 1973)		Kenya	<i>Cocculus pendulus</i> (Linnavuori, 1986)	Menispermaceae
<i>Orthops montanus</i> (Schilling, 1837)		Pologne	<i>Pinus</i> sp. (Wagner, 1974)	Pinaceae

Espèces	Synonymes	Pays	Plantes hôtes ³	Famille
<i>Orthops mutans</i> (Stal, 1858)		Sibérie	<i>Urtica cannabina</i> (Kerzhner, 1988)	
<i>Orthops nigriscutum</i> (Poppius, 1912)		Uyassa (Afrique de l'Est)	non spécifié	
	<i>Orthops arcanus</i> Linnavuori, 1975	Ethiopie		
<i>Orthops nigropunctatus</i> (Poppius, 1912)		Kilimanjaro (Afrique)	non spécifié	
<i>Orthops pilosulus</i> Jakovlev, 1877		Perse	<i>Calligonum</i> sp. (Putshkov, V., 1976)	Polygonaceae
<i>Orthops podocarpi</i> Linnavuori, 1975		Ethiopie	<i>Podocarpus gracilior</i> (Linnavuori, 1975)	Podocarpaceae
<i>Orthops polydeukes</i> Linnavuori, 1974		Nigeria	non spécifié	
<i>Orthops qualis</i> (Distant, 1909)		Inde	non spécifié	
<i>Orthops sangvinolentus</i> (Reuter, 1879)		Turkestan	non spécifié	
<i>Orthops santaluciae</i> (Lindberg, 1958)		Ile du Cap Vert	<i>Lavandula</i> sp. (Lindberg, 1958)	Lamiaceae
<i>Orthops scutellatus</i> Uhler, 1877		Colorado (Etats Unis)	<i>Daucus carota</i> (Kelton, 1980)	Apiaceae
	<i>Orthops buchanani</i> (Poppius, 1914)	Nouvelle Zélande	<i>Heracleum</i> sp. (Lindberg, 1959)	Apiaceae
	<i>Orthops flavoscutellatus</i> (Matsumura, 1911)	Ile Sakhaline (Russie)	espèce non spécifiée (Lindberg, 1959)	Apiaceae
	<i>Orthops sachalinus</i> (Carvalho, 1959)	Ile Sakhaline (Russie)		
	<i>Orthops udonis</i> (Matsumura, 1917)	Japon		
<i>Orthops sjostedti</i> (Poppius, 1910)		Meru (Afrique de l'Est)	<i>Podocarpus</i> sp. (Linnavuori, 1975)	Podocarpaceae
	<i>Orthops incertus</i> (Poppius, 1910)	Meru (Afrique de l'Est)		
	<i>Orthops labdakos</i> Linnavuori, 1974	Nigeria		
<i>Orthops suturellus</i> (Poppius, 1910)		Meru (Afrique de l'Est) ; Kilimanjaro	non spécifié	
	<i>Orthops aberrans</i> (Poppius, 1912)	Afrique de l'Est		
<i>Orthops tessulatus</i> Linnavuori, 1975		Bahr el Ghazal (Soudan)	non spécifié	
<i>Orthops unguicularis</i> (Linnavuori, 1973)		Ethiopie	non spécifié	
<i>Orthops v-flavum</i> (Reuter, 1907)		Baie d'Algoa (Afrique du Sud)	non spécifié	
<i>Orthops versicoloreus</i> Linnavuori, 1975		Soudan	non spécifié	
<i>Orthops vitticeps</i> (Reuter, 1906)		Sichuan (Chine)	non spécifié	

^{3 3} Liste de plantes-hôtes non exhaustive (d'après la base de données : On-line Systematic Catalog of Plant Bugs) – ne sont répertoriées dans la base de données que les plantes hôtes décrites dans des publications accessibles en pdf.

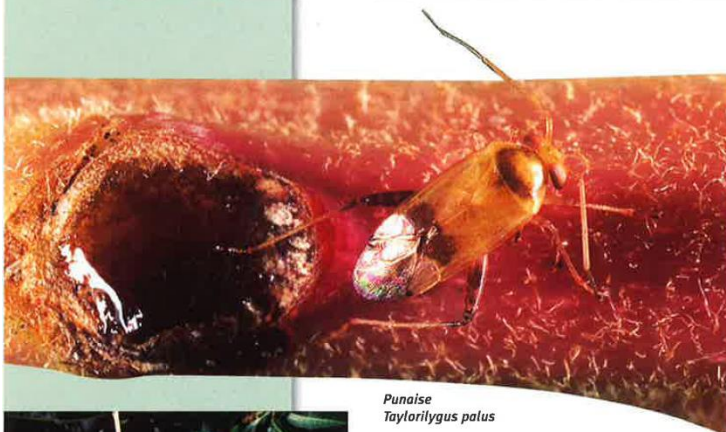
Références

- Cmoluchowa, A. and L. Lechowski., 1977. Contribution to the recognition of Heteroptera of east Beskidi and Bieszczady. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Lublin, sec. C*, 32: 265--270.
- Gollner-Scheiding, U., 1970. Beiträge zur Heteropteren-Fauna Brandenburgs. 1. Die Heteropteren-Fauna des Gross-Machnower Weinbergs und seiner naheren Umgebung. *Archiv für Naturschutz und Landschaftsforschung* 10: 41—70
- Gollner-Scheiding, U., 1972. Beiträge zur Heteropteren-Fauna Brandenburgs. 2. Übersicht über die Heteropteren von Brandenburg. *Veröffentl. Bizirksheimat Mus. Potsdam* 25/26: 5--39.
- Hoberlandt, L., 1956. Results of the Zoological Scientific Expedition of the National Museum in Praha to Turkey. 18. Hemiptera IV. Terrestrial Hemiptera-Heteroptera of Turkey. *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* 3 (suppl.): 1--264 (1955)
- Josifov, M., 1974. Die Heteropteren der Bulgarischen Schwarzmeerküste. *Izvestiya na Zoologicheskaya Institut s Muzei* 39: 5--27. [In Bulgarian].
- Kelton, L. A., 1980. The plant bugs of the prairie provinces of Canada. Heteroptera: Miridae. Part 8. In: *The Insects and Arachnids of Canada. Agriculture Canada Research Branch Publication* 1703: 408 pp.
- Kerzhner, I. M., 1988. Novye i maloizvestnye poluzhestkiokrylye nasekomye (Heteroptera) Dal'nego Vostoka SSSR [New and little known heteropteran insects (Heteroptera) from the Far East of the USSR]. *Akad. Sci. USSR, Vladivostok*, 1987: 1--84.
- Knight, H. H., 1968. Taxonomic review: Miridae of the Nevada test site and the western United States. *Brigham Young University Science Bulletin, Biological Series* 9: 282pp.
- Lindberg, H., 1958. Hemiptera Insularum Caboverdensium. *Societatis Scientiarum Fennica, Commentationes Biologicae* 19(1): 246 pp.
- Lindberg, H., 1959. Hemiptera Heteroptera from Newfoundland, collected by the Swedish-Finnish Expedition of 1949 and 1951. *Acta Zoologica Fennica* 96: 1--25.
- Lindberg, H., 1961. Hemiptera Insularum Madeirensium. *Societatis Scientiarum Fennica, Commentationes Biologicae* 24(1): 1--82.
- Linnavuori, R. E., 1975. Hemiptera of the Sudan, with remarks on some species of the adjacent countries. 4. Miridae and Isometopidae. *Annales Zoologici Fennici* 12: 1--118.
- Linnavuori, R. E., 1986. Heteroptera of Saudi Arabia. *Fauna of Saudi Arabia* 8: 31--197.
- Pericart, J., 1965. Contribution a la fanistique de la Corse: Héteroptyères Miridae et Anthocoridae (Hem.). *Bulletin Mensuel de la Societe Linneenne de Lyon* 34: 377--384.
- Putshkov, V. G., 1976. On ecology and distribution of certain little known and new species of Miridae (Heteroptera) in the Turkmen SSR. *Doklady Akademii Nauk Ukrainskoi SSR, Ser. B*, 1976(8): 753--757.
- Schmitz, G., 1976. La faune terrestre de l'île de Sainte-Helene, 10. Fam. Miridae. Troisieme partie. *Annales du Musee Royal d'Afrique Central, ser. 8, Zool.* 215: 473--533.
- Wagner, E., 1974. Die Miridae Hahn, 1831, des Mitelmeerraumes und der Makaronesischen Inseln (Hemiptera, Heteroptera). Teil. 1. *Entomologische Abhandlungen* 37 Suppl. iii + 484 pp.

Annexe 2

Punaise

NOM COMMUN	ORDRE/FAMILLE	NOM SCIENTIFIQUE	ESPECES FRUITIERES ATTAQUEES
Punaise	Hemiptera / Miridae	<i>Taylorilygus palus</i>	Manguier, letchi



Punaise
Taylorilygus palus

Description

La punaise se déplace rapidement à l'intérieur des panicules florales et sur les jeunes pousses. Adulte, l'insecte de couleur vert jaune ou brun clair, atteint 4 mm de long et vole d'arbre en arbre. Les stades larvaires sont plus petits et ont des ailes incomplètement développées.

Nature des dégâts

La punaise se nourrit de la sève des bourgeons, des pousses tendres et des panicules florales en piquant les organes à l'aide de son rostre. Ses multiples piqûres provoquent des déformations sur les jeunes pousses et des

dessèchements capables d'anéantir la totalité de la floraison du manguier. Ses attaques sont rares sur letchi mais occasionnent parfois des pertes non négligeables.

Estimation des attaques

ESPECE FRUITIERE	METHODE DE SURVEILLANCE	SEUIL DE TRAITEMENT (pour 20 battages)
Manguier	Battage* des panicules	3 punaises par battage
Letchi	Battage des panicules	3 punaises par battage

* Le battage consiste à tapoter une vingtaine de jeunes pousses ou de panicules réparties sur 10 arbres au-dessus d'une feuille de papier de format A4. Il suffit de compter le nombre de punaises tombées sur la feuille et de calculer la moyenne des 20 battages.

Traitements recommandés

SPECIALITE COMMERCIALE (matière active)	DOSE / 100 l	DELAÏ D'EMPLOI av. récolte	OBSERVATIONS
DECIS (deltaméthrine)	50 ml	7 jours	Ces produits sont toxiques pour les insectes utiles et peuvent occasionner de graves déséquilibres s'ils sont utilisés de manière répétitive. Traiter uniquement si le seuil d'intervention est atteint.
SHERPA 10 CYPERFOR (cyperméthrine)	30 ml	7 jours	
KARATE ZEON (lambda-cyhalothrine)	12,5 ml	7 jours	



Dégâts de punaise sur panicule de manguier



Dégâts de punaise sur jeunes pousses

Annexe 3

***Corizidolon notaticolle* Reuter, 1907**

Systematic.

Subfamily Mirinae Carvalho, 1959

Tribe Hyalopeplini Carvalho, 1952

Genus *Corizidolon* Reuter, 1907

Synonymy.

Corizidolon notaticolle Reuter, 1907: 4 (descr. ♀, Mauritius)

Corizidolon notaticolle Reuter, 1907: Poppius, 1912: 2 (key), 9 (tax.)

Corizidolon notaticolle Reuter, 1907: Carvalho, 1959: 318 (cat.)

Corizidolon notaticolle Reuter, 1907: Carvalho & Gross, 1979: 437 (key), 439 (tax., fig. 22, Mauritius, Reunion Island)



Distribution.

Endemic to the Mascarene Islands (Mauritius, Reunion Island) (Reuter, 1907; Carvalho, 1959; Carvalho, 1979).

Biology.

No data on diet was available for this species, but adults and nymphs of the other species of the genus *Corizidolon* Reuter, 1907, *C. australiense* Carvalho & Gross, 1979 were observed on inflorescences of *Ryparosa kurrangii* B.L. Webber (Achariaceae) (Webber et al., 2008). The preponderance of nymphs on this tree led the authors to consider the species as a host-plant for the reproduction of *C. australiense*. One species first described in the genus *Corizidolon* and then transferred to another genus (*Pleurochilophorus sexlineatus* (Delattre, 1949)) is known to attack cotton (Carvalho, 1979). *Corizidolon notaticolle* is probably phytophagous. In this study, *C. notaticolle* was collected on *Mangifera indica* L., 1753, *Schinus terebinthifolius* Raddi, 1820 (Anacardiaceae), *Terminalia bentzoë* (L.) L.f. (Combretaceae) and *Dombeya* sp (Malvaceae). This species was collected on both mango and on low growing vegetation but was rare in both cases.

Diagnosis.

This species cannot be confused with others species of Miridae in mango orchards in Reunion Island. Its two dorsal black spots on the pronotum are very characteristic and very visible.

References.

Carvalho J.C.M., Catalogue of the Miridae of the World, Part IV, *Arquivos do Museu Nacional* 48 (1959) 1-384.

Carvalho J.C.M. in collaboration with Gross G.F., The tribe Hyalopeplini of the world (Hemiptera:Miridae), *Records of the South Australian Museum* 17 (1979) 429-531.

Reuter O.M., Ad cognitionem Capsidarum Aethiopicarum, IV, *Öfversigt af Finska Vetenskaps-societetens Förhandlingar* 49(7) (1907) 1-27.

Webber B.L., Curtis A.S.O., Cassis G., Woodrow I.E., Flowering morphology, phenology and flower visitors of the Australian rainforest tree *Ryparosa kurrangii* (Achariaceae), *Australian Entomologist* 35(1) (2008) 7-17.

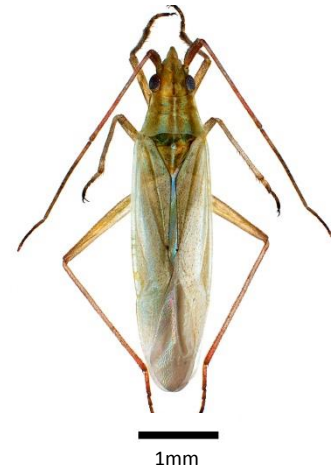
***Trigonotylus tenuis* Reuter, 1893**

Systematic.

Subfamily Mirinae Carvalho, 1959

Tribe Stenodemini China, 1943

Genus *Trigonotylus* Fieber, 1858



Synonymy.

Trigonotylus ruficornis tenuis Reuter, 1893: 208 (descr., Seychelles)

Trigonotylus pallidicornis Reuter, 1899: 161 (descr., Algeria)

Megaloceroea doddi Distant, 1904a: 269 (descr., Australia)

Megaloceroea dohertyi Distant, 1904b: 425 (descr., Myanmar)

Trigonotylus pallidicornis Reuter, 1899: Reuter, 1907: 1 (syn., Madagascar)

Trigonotylus pallidicornis Reuter, 1899: Lindberg, 1958: 100 (ecol., Cape Verde)

Trigonotylus dohertyi (Distant, 1904): Carvalho, 1959: 313 (cat., Cameroon, Nigeria)

Trigonotylus pallidicornis Reuter, 1899: Carvalho *et al.*, 1960: 465 (South Africa)

Trigonotylus pallidicornis Reuter, 1899: Linnavuori, 1973: 71 (Democratic Republic of the Congo)

Trigonotylus doddi (Distant, 1904): Eyles, 1975: 162 (n. comb., ecol.), 165 (fig.)

Trigonotylus dohertyi (Distant, 1904): Eyles, 1975: 162 (syn.)

Trigonotylus pallidicornis Reuter, 1899: Linnavuori, 1975: 18 (Sudan)

Trigonotylus doddi (Distant, 1904): Snodgrass *et al.*, 1984: 859 (ecol.)

Trigonotylus pallidicornis Reuter, 1899: Linnavuori, 1986: 129 (Saudi Arabia)

Trigonotylus doddi (Distant, 1904): Buntin, 1988: 217 (ecol.)

Trigonotylus pallidicornis Reuter, 1899: Linnavuori, 1989: 30 (Yemen)

Trigonotylus doddi (Distant, 1904): Golub, 1989: 157 (syn.)

Trigonotylus tenuis Reuter, 1893: Vivas *et al.*, 2005: 125 (ecol.)

Trigonotylus tenuis Reuter, 1893: Hernández & Henry, 2010: 101 (ecol.), 169 (fig.), 190 (fig.)

Distribution.

Cosmopolitan. In the Afrotropic ecozone, this species is reported from Cameroon, Cape Verde, Democratic Republic of the Congo, Madagascar, Nigeria, Saudi Arabia, Seychelles, South Africa, Sudan and Yemen (Linnavuori, 1975; Reuter, 1907; Carvalho, 1959; Carvalho, 1960; Linnavuori, 1973; Linnavuori, 1986; Linnavuori, 1989; Reuter, 1893; Reuter, 1899; Lindberg, 1958).

Biology.

T. tenuis is a phytophagous and predatory species, known to be a pest of Poaceae species, mostly of *Cynodon dactylon* (L.) Pers., 1805 and *Oryza sativa* L., 1753. It has been reported on nine other Poaceae species and on a species of both Brassicaceae and Cyperaceae families (Snodgrass *et al.*, 1984; Hernández and Henry, 2010; Lindberg, 1958; Eyles, 1975; Buntin, 1988; Vivas *et al.*, 2005). According to Vayssières *et al.* (2001) *T. tenuis* preys on Aleyrodidae on Solanaceae in Reunion Island and is also known to prey on the eggs of homopteran pests of rice according to Wheeler (2001). *Taylorilygus apicalis*, *Trigonotylus tenuis* is known to be the host of the mite *Lasioerythraeus johnstoni* Welbourn & Young, 1987 (Prostigmata, Erythraeidae, Erythraeinae) in the U.S.A. (Young and Welbourn, 1988). In this study, *T. tenuis* was collected on *Mangifera indica* L., 1753 (Anacardiaceae) and *Zea mays* L., 1753 (Poaceae). The species was collected on both mango and low growing vegetation. It was rare on mango and uncommon on low growing vegetation.

Diagnosis.

Trigonotylus tenuis can't be confused with other Miridae from mango orchards on Reunion Island with its combination of green coloration (which may fade to stramineus) and the pale median stripe on the pronotum and scutellum.

References.

- Buntin G.D., *Trigonotylus doddi* (Distant) as a pest of Bermuda grass: damage potential, population dynamics, and management by cutting, *Journal of Agricultural Entomology*. 5(4) (1988) 217-224.
- Carvalho J.C.M., Catalogue of the Miridae of the World, Part IV, *Arquivos do Museu Nacional* 48 (1959) 1-384.
- Carvalho J.C.M., Dutra J.A.P., Becker J., Hemiptera Heteroptera: Miridae, In: *South African Animal Life*, Swedish National Research Council, Stockholm 7 (1960) 446-477.
- Eyles A.C., Further new genera and other new combinations for species previously assigned to *Megaloceroea* (Hemiptera: Miridae: Stenodemini), *Journal of Natural History* 9 (1975) 153-167.
- Hernández L.M., Henry T.J. 2010. The plant bugs, or Miridae (Hemiptera: Heteroptera), of Cuba, *Pensoft Series Faunistica* No 92, Bulgaria, 2010.
- Lindberg H., Hemiptera Insularum Caboverdensium. Systematik, Ökologie und Verbreitung der Heteropteren und Cicadinen der kapverdischen Inseln, *Societatis Scientiarum Fennica, Commentationes Biologicae* 19(1) (1958) 1-246.
- Linnavuori R.E., A collection of Heteroptera from Katanga, with remarks on some species from other parts of the Ethiopian Region, *Annales Entomologici Fennici* 39 (1973) 70-94.
- Linnavuori R.E., Hemiptera of the Sudan, with remarks on some species of the adjacent countries, 4, Miridae and Isometopidae, *Annales Zoologici Fennici* 12 (1975) 1-118.
- Linnavuori R.E., Heteroptera of Saudi Arabia, *Fauna of Saudi Arabia* 8 (1986) 31-197.
- Linnavuori R.E., Heteroptera of Yemen and South Yemen, *Acta Entomologica Fennica* 54 (1989) 1-40.
- Reuter O.M., [New species of Miridae], In: Bergroth, E., *Mission scientifique de M. Ch. Alluaud aux Iles Sechelles*, *Revue d'Entomologie*, Caen 12 (1893) 197-209.
- Reuter O.M., *Capsidae novae mediterraneae*, I, *Öfversigt af Finska Vetenskaps-societetens Förhandlingar* 42B (1899) 131-162.
- Reuter O.M., *Ad cognitionem Capsidarum Aethiopicarum*, IV, *Öfversigt af Finska Vetenskaps-societetens Förhandlingar* 49(7) (1907) 1-27.
- Snodgrass G.L., Henry T.J., Scott W.P., An annotated list of the Miridae (Heteroptera) found in the Yazoo-Mississippi Delta and associated areas in Arkansas and Louisiana, *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 86 (1984) 845-860.
- Vayssières J.-F., Delvare G., Maldès J.-M., Aberlenc H.-P., *Inventaire Préliminaire des Arthropodes Ravageurs et Auxiliaires des Cultures Maraichères sur l'Ile de Reunion Island*, *Insect Science and its Application* 21(1) (2001) 1-22.
- Vivas L.E., Cermeli M., Godoy F., Primera cita de *Trigonotylus tenuis* Reuter, 1893 (Hemiptera: Miridae) causando daños en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) en Venezuela, *Entomotropica* 20(2) (2005) 125-126.
- Wheeler A.G., *Biology of the Plant Bugs (Hemiptera: Miridae), Pests, Predators, Opportunists*, Cornell University Press, Ithaca, NY, 2001.
- Young O.P., Welbourn W.C., Parasitism of *Trigonotylus doddi* (Heteroptera: Miridae) by *Lasioerythraeus johnstoni* (Acari: Erythraeidae), with notes on additional hosts and distribution, *Journal of Entomological Science* 23(3) (1988) 269-273.

Nesidiocoris volucer Kirkaldy, 1902

Systematic.

Subfamily Bryocorinae Carvalho, 1957

Tribe Dicyphini Carvalho, 1958

Genus *Nesidiocoris* Kirkaldy, 1902



Synonymy.

Nesidiocoris volucer Kirkaldy, 1902: 247 (descr., Reunion Island)

Dicyphus persimilis Poppius, 1910: 52 (descr. ♀ & ♂, Tanzania)

Engytatus volucer (Kirkaldy, 1902): Poppius, 1914: 18 (key, comb., tax.)

Engytatus persimilis (Poppius, 1910): Poppius, 1914: 18 (key), 19 (comb., tax., Kenya, Togo, Cape-Verde)

Cyrtopeltis (*Nesidiocoris*) *persimilis* (Poppius, 1910): Carvalho, 1958: 188 (cat.)

Nesidiocoris volucer Kirkaldy, 1902: Linberg, 1958: 102 (tax., ecol.)

Engytatus persimilis (Poppius, 1910): Linberg, 1958: 102 (syn.)

Nesidiocoris volucer persimilis (Poppius, 1910): Odhiambo, 1961: 3 (tax., Uganda)

Cyrtopeltis (*Nesidiocoris*) *volucer persimilis* (Poppius, 1910): Linnavuori, 1975: 12 (Sudan)

Nesidiocoris volucer persimilis (Poppius, 1910): Cassis, 1984: 136 (ecol.)

Distribution.

Cape-Verde, Kenya, Uganda, Reunion Island, Sudan, Tanzania, Togo (Kirkaldy, 1902; Poppius, 1910; Poppius, 1958; Odhiambo, 1961; Linnavuori 1975).

Biology.

N. volucer is known to deform leaves of tobacco *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) in Zimbabwe (Wheeler, 2001). This species was also described as attacking eggs of beetles *Lema bilineata* Germar, 1824 and also insects, alive or dead, imprisoned in the adhesive tobacco leaves (Wheeler, 2001). *N. volucer* was collected on Solanaceae and on *Cleome aculeata* L. (Cleomaceae) in Cape-Verde (Linberg 1958) and on *Cleome* sp (Cleomaceae) in Africa (Cassis, 1984).

N. tenuis (Reuter, 1895) was reported to be a predator of Aleyrodidae and Aphididae on Asteraceae, Cucurbitaceae, Fabaceae and Solanaceae in Reunion Island (Vayssières et al, 2001). It is likely that *N. volucer* attacks Aleyrodidae and Aphididae in Reunion Island too.

In this study, *N. volucer* was collected on *Cajanus cajan* (L.) Huth, 1893 (Fabaceae). This species was collected only on low growing vegetation and was rare.

Diagnosis.

Nesidiocoris can be distinguished from other Miridae found in mango orchards in Reunion Island by its thin appearance, grey coloration and by the presence of black spots on both the apex of cuneus and cuneal fracture. Two species of *Nesidiocoris* have been reported in Reunion Island, *N. volucer* and *N. tenuis*. Until now, only *N. volucer* has been collected in mango orchards but it is possible that *N. tenuis* is also present in mango orchards. The two species cannot be distinguished without dissecting the male genitalia.

References.

Carvalho J.C.M., Catalogue of the Miridae of the World, Part II, Arquivos do Museu Nacional 45 (1958) 1-216.

Cassis G., A Systematic Study of the Subfamily Dicyphinae, PhD thesis, Oregon State

University, 1984, 403 p.

Odhiambo T.R., A study of some African species of the *Cyrtopeltis* complex (Hemiptera: Miridae), *Revista de Entomologia de Moçambique* 4 (1961) 1-36.

Kirkaldy G.W., Memoir upon the Rhynchotal family Capsidae Auctt, *Transactions of the Entomological Society of London* 50(2) (1902) 243-272.

Linnavuori R.E., Hemiptera of the Sudan, with remarks on some species of the adjacent countries, 4, Miridae and Isometopidae, *Annales Zoologici Fennici* 12 (1975) 1-118.

Poppius B., Hemiptera 4. Miridae, Anthocoridae, Teratophylidae, Microphysidae, und Nabidae. *Wissenschaftliche Ergebnisse der schwedischen zoologischen Expedition nach dem Kilimandjaro, dem Meru und den umgebenden Massaisteppe Deutsch-Afrikas*, Palmqvist, Stockholm 2 (1910) 25-60.

Poppius B., Die Miriden der Äthiopischen Region, II, Macrolophinae, Heterotominae, Phylinae, *Acta Societatis Scientiarum Fennicae* 44(3) (1914) 1-138.

Wheeler A.G., *Biology of the Plant Bugs (Hemiptera: Miridae), Pests, Predators, Opportunists*, Cornell University Press, Ithaca, NY, 2001.

***Proboscidocoris* sp**

Systematic.

Subfamily Mirinae Carvalho, 1959

Mirini Hahn, 1833

Genus *Proboscidocoris* Reuter, 1882

Biology.

According to Poutouli *et al.*, the species of the *Proboscidocoris* genus are phytophagous. An unidentified species of *Proboscidocoris* has been reported on *Anacardium occidentale* L., 1753 (Anacardiaceae) in Benin (Agboton *et al.*, 2014).

In this study, *Proboscidocoris* sp was collected on *Alyssum* sp (Brassicaceae). This species was collected only on low growing vegetation and was very rare.



Diagnosis.

This species can be confused with *Deraeocoris* cf *howanus*, which has a similar body shape and color. *Proboscidocoris* sp can be distinguished from this *Deraeocoris* species by the patches of white pilosity present all over its head, pronotum, scutellum and hemelytron and by the pattern of color on its legs and antennae.

A single female specimen of this *Proboscidocoris* species was collected which did not match the descriptions of the Afrotropical *Proboscidocoris* species.

References.

Agboton C., Onzo A., Ouessou F.I., Goergen G., Vidal S., Tamò M., Insect Fauna Associated With *Anacardium occidentale* (Sapindales: Anacardiaceae) in Benin, West Africa, *Journal of Insect Science*. 14(229) (2014) 1-11.

Poutouli W., Silvie P., Aberlenc H.-P., Hétéroptères phytophages et prédateurs d'Afrique de l'Ouest, Editions Quae, CTA, 2011.

Deraeocoris indianus Carvalho, 1957

Systematic.

Deraeocorinae Carvalho, 1957

Tribe Deraeocorini Carvalho, 1957

Genus *Deraeocoris* Kirschbaum, 1856

Synonymy.

Deraeocoris indicus Ballard, 1927: 61 (descr., India), plate XV (fig.)

Deraeocoris indianus Carvalho, 1957: 67 (n. name for *Deraeocoris indicus* Ballard, 1927, junior primary homonym of *Deraeocoris indicus* Poppius, 1915)

Deraeocoris indianus Carvalho, 1957: Durán et al., 1998: 114 (ecol., Indonesia)

Deraeocoris indianus Carvalho, 1957: Gerling et al., 2001: 783 (ecol.)

Deraeocoris indianus Carvalho, 1957: Vayssières et al., 2001: 20 (ecol., Reunion Island)

Deraeocoris indianus Carvalho, 1957: Evans, 2007: 244 (ecol.)

Deraeocoris indianus Carvalho, 1957: Nurindah & Sunarto, 2008: 3 (ecol.)

Distribution.

India, Indonesia, Reunion Island (Kirkaldy, 1902; Ballard, 1927; Carvalho, 1957; Durán et al., 1998).

Biology.

The description of the species (under the name of *D. indicus*) by Ballard (1927) mentions that this species was collected on *Gossypium* sp plants (Malvaceae) infested by the aphid *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Aphididae). Later, *D. indianus* was observed attacking *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Aleyrodidae) and *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Noctuidae) (Durán et al., 1998; Gerling et al., 2001; Evans, 2007; Nurindah and Sunarto, 2008).

D. indianus was collected on *Gossypium* sp and *Gossypium hirsutum* L., 1763 (Malvaceae) and *Crotalaria juncea* L. (Fabaceae) in India and in Indonesia (Ballard, 1927; Nurindah and Sunarto, 2008) and on Asteraceae, Cucurbitaceae, Fabaceae and Solanaceae in Reunion Island (Vayssières et al., 2001).

In this study, *D. indianus* was collected on *Coriandrum* sp (Apiaceae) and on *Cajanus cajan* (L.) Huth, 1893 (Fabaceae). This species was collected only on low growing vegetation and was rare.

Diagnosis.

D. indianus is easy to confuse with light colored specimens of *D. cf howanus* but can be distinguished from the latter by its punctuation, concolorous with the tegument and by the apex of the second antennal segment which is not swollen.

References.

Ballard E., Some new Indian Miridae (Capsidae), *Memoirs of the Department of Agriculture in India, Entomological Series*. 10(4) (1927) 61-68.

Carvalho J.C.M., Catalogue of the Miridae of the World, Part I, *Arquivos do Museu Nacional*, 44 (1957) 1-158.

Durán J.M., Alvarado M., Serrano A., De La Rosa A., Ortiz E., Chinchas auxiliares del algodón en Andalucía Occidental, *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 24 (1998) 113-126.

Evans G.A., *The Whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the World and Their Host Plants and Natural Enemies*. Available at



http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/whitefly/PDF_PwP%20ETC/world-whitefly-catalog-Evans.pdf (2007) [accessed 21 April 2015].

Gerling D., Alomar O., Arnó J., Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids, *Crop Protection* 20 (2001) 779-799.

Keberhasilan PHT Kapas, *Perspektif* 7(1) (2008) 1-11. Schaefer C.W., Panizzi A.R., *Heteroptera of Economic Importance*, CRC Press, 2000.

Kirkaldy G.W., Memoir upon the Rhynchotal family Capsidae Auctt, Transactions of the Entomological Society of London 50(2) (1902) 243-272.

Nurindah S., Sunarto D.A., Konservasi Musuh Alami Serangga Hama sebagai Kunci Keberhasilan PHT Kapas, *Perspektif* 7(1) (2008) 1-11.

Vayssières J.-F., Delvare G., Maldès J.-M., Aberlenc H.-P., Inventaire Préliminaire des Arthropodes Ravageurs et Auxiliaires des Cultures Maraichères sur l'Ile de Reunion Island, *Insect Science and its Application* 21(1) (2001) 1-22.

Deraeocoris cf howanus Poppius, 1912

Systematic.

Subfamily Deraeocorinae Carvalho, 1957

Tribe Deraeocorini Carvalho, 1957

Genus *Deraeocoris* Kirschbaum, 1856



1mm

Biology.

Bugs of the genus *Deraeocoris* are known to be generalist predators. They are known to prey upon Adelgidae, Aleyrodidae, Aphididae, Cercopidae, Diaspididae, Lygaeidae, Miridae, Pseudococcidae, Psyllidae or Tingidae (Hemiptera) and also upon Noctuidae (Lepidoptera) or Tetranychidae (Trombidiformes) (Wheeler, 2001; Schaefer, 2000).

Deraeocoris species can be found on highly diverse host plants belonging to many families. It is important to note that the presence of *Deraeocoris* species on a plant is more influenced by the presence of prey than by the plant itself.

In this study, *D. cf howanus* was collected on *Mangifera indica* L., 1753, *Schinus terebinthifolius* Raddi, 1820 (Anacardiaceae), *Terminalia bentzoë* (L.) L.f. (Combretaceae), *Acacia* sp, *Albizia lebbbeck* (L.) Benth., 1844, *Cassia fistula* L., 1753, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, 1961 (Fabaceae) and *Dombeya* sp (Malvaceae). This species was collected on both the mango canopy and on low growing vegetation but was rare in both cases.

Diagnosis.

The coloration of this species is highly variable, ranging from brownish yellow to black. Some specimens correspond to the description of *Deraeocoris howanus* Poppius, 1912 and to a lesser extent of *Deraeocoris brunneus* Poppius, 1912 both described in Madagascar. The types of the two species, reported by Poppius to be present in the Paris Natural History Museum collection, were searched for without success in the collection. Thus, without the review of these types, we prefer not to attach this morphospecies to *D. howanus*.

D. cf howanus can be confused with *Campylomma leucochila* and *C. spA* in the case of the darkest specimens. The species can be distinguished from these two species thanks to a clearly visible pronotal collar and by the lack of pilosity on the pronotum and hemelytra. Light specimens can be confused with *Deraeocoris indianus* Carvalho, 1957 but in fact differ in the dark punctuation of their pronotum and hemelytra and also by the second antennal segment, whose apex is swollen.

A third species of *Deraeocoris*, *Deraeocoris ostentans* (Stål, 1855), which has been reported in Reunion Island, has not yet been collected in mango orchards. This species can be distinguished from *D. indianus* by the presence of a transversal dark stripe on the membrane of hemelytra and from *D. cf howanus* by the absence of a broadened apex of the second antennal segment (*D. cf howanus* usually does not have the transversal dark stripe on the membrane of hemelytra but some dark specimens have a slight one).

References.

Poppius B., Die Miriden der Äthiopischen Region, I, Mirina, Cylapina, Bryocorina, *Acta Societatis Scientiarum Fennicae* 41(3) (1912) 1-203.

Schaefer C.W., Panizzi A.R., *Heteroptera of Economic Importance*, CRC Press, 2000.

Wheeler A.G., *Biology of the Plant Bugs (Hemiptera: Miridae), Pests, Predators, Opportunists*, Cornell University Press, Ithaca, NY, 2001.

Campylomma cf angustior Poppius, 1914

Systematic.

Phylinae Douglas and Scott, 1865

Phylini Carvalho, 1958

Biology.

Species of the genus *Campylomma* can be both predator and phytophagous (Malipatil, 1992). According to some authors, only nymphs are predators. Adults are phytophagous. Other authors point to egg or young predation by adults or nymphs of *Campylomma liebkei* (Girault, 1934) (Malipatil, 1992). Others species of *Campylomma* have been observed predating Aleyrodidae (*Campylomma diversicornis* Reuter, 1878; *Campylomma verbasci* (Meyer-Dur, 1843) and also Aphididae or Pseudococcidae (*Campylomma verbasci* (Meyer-Dur)) (Wheeler, 2001). *C. verbasci* can be predacious but this species also causes damage to apple trees (*Malus domestica* Borkh.) (Rosaceae) (Kain & Agnello, 2013; Reding *et al.*, 2001). *C. angustior* Poppius, 1914 is referred to as a pest of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) (Poaceae) (Wheeler, 2001).

In this study, *C. cf angustior* was collected on *Mangifera indica* L., 1753 (Anacardiaceae), *Crotalaria* sp, *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth., 1844 (Fabaceae) and *Litchi chinensis* Sonn., 1782 (Sapindaceae). This species was collected on both mango and on low growing vegetation. It was rare on mango and common on low growing vegetation.

Diagnosis.

This species is morphologically close to *Campylomma angustior*, but some details of its morphology and genitalia preclude its identification as this species (Poppius, 1914; Odhiambo, 1960; Linnavuori, 1975; Linnavuori, 1993). Furthermore, the present state of knowledge of Miridae on Reunion Island, and more broadly in the Malagasy region, is poor, consequently, we prefer to wait for future taxonomic revision before naming this species.

This species could be easily confused with another species of *Campylomma* collected in mango orchards in Reunion Island, *C. cf plantarum* Lindberg, 1958.

C. cf angustior (Fig. 12) can be distinguished from *C. cf plantarum* (Fig. 13, 14) by the distribution of the black spots on the femur III (Fig. 21, 22) and also by the coloration of the second male antennal segment (yellow with a blackish base in *C. cf angustior* (Fig. 12), black in *C. cf plantarum* (Fig. 13)).

A few specimens of *Campylomma* did not exactly match *C. cf plantarum* or *C. cf angustior* and are more or less intermediate between these both morphospecies. With the few specimens available we cannot yet say if they are just intraspecific variations or if a species complex exists within the *Campylomma* in Reunion Island.



Campylomma leucochila (Reuter, 1905)

Systematic.

Subfamily Phylinae Douglas & Scott, 1865

Tribe Phylini Carvalho, 1958

Genus *Campylomma* Reuter, 1878

Synonymy.

Sthenarus leucochilus Reuter, 1905: 8 (descr. ♀, Reunion Island)

Sthenarus leucochilus Reuter, 1905: Poppius, 1914: 93 (key), 94 (tax., Madagascar, Tanzania, Mozambique, Eritrea)

Sthenarus vestitus Poppius, 1914: 94 (descr. ♀ & ♂, Kenya, Mozambique)

Sthenarus leucochilus Reuter, 1905: Carvalho, 1958: 146 (cat., Rodrigues, Seychelles, Tromelin)

Sthenarus leucochilus Reuter, 1905: Lindberg, 1958: 121 (ecol., Cape Verde)

Sthenarus sordidus Odhiambo, 1960: 435 (descr. ♀ & ♂, Uganda, Kenya)

Stenocapsus leucochilus (Reuter, 1905): Linnavuori, 1973: 72 (Democratic Republic of the Congo)

Stenocapsus leucochilus (Reuter, 1905): Linnavuori, 1975: 109 (comb., Sudan)

Sthenarus sordidus Odhiambo, 1960: Linnavuori, 1975: 109 (syn.)

Stenocapsus leucochilus (Reuter, 1905): Linnavuori, 1986: 165 (Saudi Arabia)

Stenocapsus leucochilus (Reuter, 1905): Linnavuori, 1989: 33 (Yemen)

Campylomma leucochila (Reuter, 1905): Linnavuori, 1993: 242 (key), 250 (comb., tax., ecol., fig. 40 & 72 i-m, Ghana, Ivory Coast, Togo, Nigeria, Cameroun, Burkina Faso, Central African Republic, Ethiopia, Angola)

Sthenarus vestitus Poppius, 1914: Linnavuori, 1993: 250 (syn.)

Sthenarus sordidus Odhiambo, 1960: Uddin & Adesiyun, 2011: 977 (ecol.)



Distribution.

Angola, Saudi Arabia, Burkina Faso, Cameroun, Cape Verde, Eritrea, Ethiopia, Ghana, Ivory Coast, Kenya, Madagascar, Mozambique, Nigeria, Uganda, Central African Republic, Democratic Republic of the Congo, Reunion Island, Rodrigues, Seychelles, Sudan, Tanzania, Togo, Tromelin, Yemen.

Biology.

Campylomma leucochila is reported to be a predator (Cadou, 1994), particularly of Aleyrodidae (Vayssières *et al.*, 2001). Species of *Sthenarus* Fieber, 1858, the genus to which *C. leucochila* has long been attached, are predators of the eggs and larvae of *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Aleyrodidae) (Delattre, 1973).

This species has been collected on *Conyza feae* (Bég.) Wild (Asteraceae), *Momordica charantia* L., 1753 (Cucurbitaceae), *Cajanus cajan* (L.) Huth, 1893, *Desmanthus virgatus* (L.) Willd., 1806, *Desmodium* sp, *Indigofera tinctoria* L., 1753, *Indigofera* sp, *Medicago sativa* L., 1753, *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth., 1865 (Fabaceae), *Gossypium hirsutum* L., 1763, *Malvastrum americanum* (L.) Torr., 1859 (Malvaceae), *Ceratotheca sesamoides* Endl., *Sesamum orientale* L., 1753 (Pedaliaceae), *Sorghum bicolor* (L.) Moench, 1794 (Poaceae) and *Tetraena fontanesii* (Webb & Berthel.) Beier & Thulin (Zygophyllaceae) (Cadou, 1994; Lindberg, 1958; Odhiambo, 1960; Uddin & Adesiyun, 2011) as well as on Solanaceae (Vayssières *et al.*, 2001).

The abundance of this species appears to vary considerably from year to year, and to be

concentrated between mid-August and late September in Central African Republic (Cadou, 1994).

C. leucochila can be parasitized by a Braconidae, *Leiophron* (*Euphoriella*) *marica* (Nixon, 1946) (Nixon, 1946).

In this study, *C. leucochila* was collected on *Mangifera indica* L., 1753, *Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson, 1773 (Anacardiaceae), *Parthenium hysterophorus* L., 1753 (Asteraceae), *Cordia africana* Lam., 1792 (Boraginaceae), *Albizia lebbbeck* (L.) Benth., 1844, *Crotalaria* sp, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, 1961, *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth., 1844 (Fabaceae), *Dombeya* sp (Malvaceae), *Zea mays* L., 1753 (Poaceae), *Murraya koenigii* (L.) Spreng. (Rutaceae), *Litchi chinensis* Sonn., 1782 (Sapindaceae), *Duranta erecta* L., 1753 and *Lantana camara* L., 1753 (Verbenaceae). The species was collected on both mango and low growing vegetation, but was uncommon in both cases.

Diagnosis.

This species can be confused with *Campylomma* spA, as both species are dark brown to black. *C. leucochila* (Fig. 15) can be distinguished from *C. spA* by the color of the first antennal segment (black in *C. leucochila*, yellow in *C. spA*), and of the second antennal segment (black in *C. leucochila*, yellow with the apical half black for *C. spA*), the color of cuneus (concolor in *C. leucochila*, reddish brown with a whitish basal stripe in *C. spA*), and by the general color of the bug (brownish black for *C. leucochila*, reddish brown for *C. spA*). The dissection of the genitalia allows reliable identification (Linnavuori, 1993).

References.

- Cadou J., Les Miridae du cotonnier en Afrique et à Madagascar, Série les déprédateurs du cotonnier en Afrique tropicale et dans le reste du monde N°8, Paris, France, CIRAD, 1994.
- Delattre R., Parasites et maladies en culture cotonnière. IRCT, Paris, 1973
- Lindberg H., Hemiptera Insularum Cabo-verdensium. Systematik, Ökologie und Verbreitung der Heteropteren und Cicadinen der kapverdischen Inseln, Societatis Scientiarum Fennica, Commentationes Biologicae 19(1) (1958) 1-246.
- Nixon G.E.J., Euphorine parasites of Capsid and Lygaeid bugs in Uganda (Hymenoptera, Braconidae), Bulletin of Entomological Research 37 (1946) 113-129.
- Odhiambo T.R., Notes on the East African Miridae (Hemiptera), XII: New species of the genera *Campylomma* Reuter and *Sthenarus* Fieber, Annals and Magazine of Natural History 13(2) (1960) 421-438.
- Uddin R.O., Adesiyun A.A. Insects associated with Bungu, *Ceratothera sesamoides* Endl. (Pedaliaceae) in Ilorin, Nigeria, Agriculture and Biology Journal of North America 2(6) (2011) 974-980.
- Vayssières J.-F., Delvare G., Maldès J.-M., Aberlenc H.-P., Inventaire Préliminaire des Arthropodes Ravageurs et Auxiliaires des Cultures Maraichères sur l'Ile de Reunion Island, Insect Science and its Application 21(1) (2001) 1-22.

Campylomma spA

Systematic.

Subfamily Phylinae Douglas & Scott, 1865

Tribe Phylini Carvalho, 1958

Genus *Campylomma* Reuter, 1878

Biology.

See the biology of *Campylomma* cf *angustior* or of another *Campylomma* described previously.

In this study, *C. spA* was collected on *Mangifera indica* L., 1753 (Anacardiaceae), *Terminalia bentzoë* (L.) L.f. (Combretaceae), *Albizia lebbbeck* (L.) Benth., 1844, *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth., 1844, *Tamarindus indica* L., 1753 (Fabaceae), *Persea americana* Mill., 1768 (Lauraceae), *Litchi chinensis* Sonn., 1782 (Sapindaceae) and *Duranta erecta* L., 1753 (Verbenaceae). This species was collected on both mango and low growing vegetation, but was rare in both cases.

Diagnosis. See the diagnosis of *C. leucochila* for a morphological comparison with related species. This morphospecies does not match the description of any *Campylomma* species of the region.



Campylomma cf plantarum Lindberg, 1958

Systematic.

Subfamily Phylinae Douglas & Scott, 1865

Tribe Phylini Carvalho, 1958

Genus *Campylomma* Reuter, 1878



Biology.

See the biology of *Campylomma cf angustior*.

In this study, *C. cf plantarum* was collected on *Mangifera indica* L., 1753 (Anacardiaceae), *Terminalia bentzoë* (L.) L.f. (Combretaceae), *Albizia lebbek* (L.) Benth., 1844, *Cassia fistula* L., 1753, *Delonix regia* (Bojer) Raf., 1837, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, 1961, *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth., 1844 and *Tamarindus indica* L., 1753 (Fabaceae). This species was collected on both mango and low growing vegetation, and was rare in both cases.

Diagnosis.

This species is morphologically close to *Campylomma plantarum* Lindberg, 1958, but some details of its morphology and genitalia show that it is not the same species (Lindberg, 1958; Odhiambo, 1960; Linnavuori, 1975; Linnavuori, 1993). As, the present state of knowledge of Miridae in Reunion Island, and more broadly in the Malagasy region, is poor, we prefer to wait for future taxonomic revision before naming this species. See the diagnosis of *C. cf angustior* for the morphological comparison with the related species.

References.

Lindberg H., Hemiptera Insularum Caboverdensium. Systematik, Ökologie und Verbreitung der Heteropteren und Cicadinen der kapverdischen Inseln, Societatis Scientiarum Fennica, Commentationes Biologicae 19(1) (1958) 1-246.

Odhiambo T.R., Notes on the East African Miridae (Hemiptera), XII: New species of the genera *Campylomma* Reuter and *Sthenarus* Fieber, Annals and Magazine of Natural History 13(2) (1960) 421-438.

Linnavuori R.E., Hemiptera of the Sudan, with remarks on some species of the adjacent countries, 4, Miridae and Isometopidae, Annales Zoologici Fennici 12 (1975) 1-118.

Linnavuori R.E., The Phylinae (Hemiptera: Miridae) of west, central and north east Africa, Garcia de Orta, Séries Zoologia 18 (1993) 115-296.

***Orthops palus* (Taylor, 1947)**

Systematic.

Subfamily Mirinae Carvalho, 1959

Tribe Mirini Hahn, 1833

Genus *Orthops* Fieber, 1858

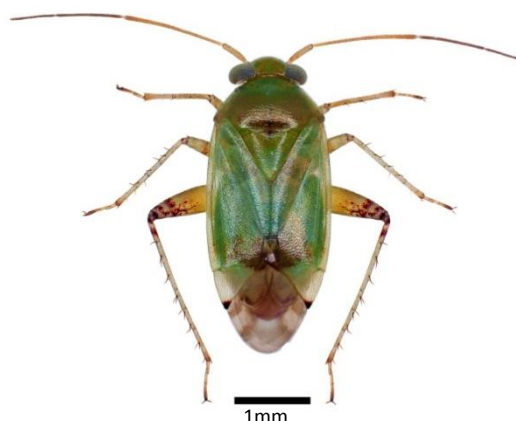
Synonymy.

Lygus palus Taylor, 1947: 240 (key), 243 (fig.), 250 (fig.), 257 (descr., Uganda)

Taylorilygus palus (Taylor, 1947): Carvalho, 1959: 265 (cat.)

Taylorilygus palus (Taylor, 1947): Etienne & Roura, 1974: 90 (ecol., Reunion Island)

Orthops palus (Taylor, 1947): Linnavuori, 1975: 41 (n. comb., Sudan), 42 (fig.)



Distribution.

Uganda, Reunion Island, Sudan.

Biology.

O. palus is described as a polyphagous bug and is considered to be one of the most important pests of mango in Reunion Island (Insa *et al.*, 2002). Damage is caused by adults and nymphs, which attack the inflorescence and suck sap and cellular content (Vincenot & Normand, 2009). In Uganda, this bug is known to be associated with flowering trees and to reproduce on *Anacardium occidentale* L., 1753, *Mangifera indica* L., 1753 (Anacardiaceae), *Caesalpinia decapetala* (Roth) Alston, 1931, *Entada abyssinica* Steud. ex A. Rich. (Fabaceae) and *Triumfetta* sp (Malvaceae) (Taylor, 1947).

In this study, *O. palus* was collected on *Mangifera indica* L., 1753 (Anacardiaceae), *Parthenium hysterophorus* L., 1753 (Asteraceae), *Cajanus cajan* (L.) Huth, 1893, *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth., 1844 (Fabaceae) and *Lantana camara* L., 1753 (Verbenaceae). This species was collected on both mango and low growing vegetation. It was uncommon on low vegetation but very common on mango inflorescences.

Diagnosis.

O. palus (Fig. 7) can be confused with the two *Taylorilygus* species found mango orchards on Reunion Island, *T. apicalis* (Fieber, 1861) (Fig. 9) and *T. cf entadae* (Fig. 10). The hemelytron of *O. palus* lacks markings on the corium or has at most a vague infuscation at the distal end of the corium, whereas the hemelytron of *T. apicalis* has faint markings, as can be seen in Fig. 9. The second antennal segment of *O. palus* and *T. apicalis* is concolorous yellow while the apical forth of this segment in *T. cf entadae* is darker (Taylor, 1947).

References.

Vincenot D., Normand F., Guide de production intégrée de mangues à Reunion Island, CIRAD, Montpellier, 2009.

***Taylorilygus cf entadae* (Taylor, 1947)**

Systematic.

Subfamily Mirinae Carvalho, 1959

Tribe: Mirini Hahn, 1833

Genus *Taylorilygus* Leston, 1952

Biology.

Taylorilygus cf entadae is probably a phytophagous species like other *Taylorilygus* species (Logarzo *et al.*, 2005; Poutouli *et al.*, 2011; Snodgrass *et al.*, 1984).

In this study, *T. cf entadae* was collected on *Lantana camara* L., 1753 (Verbenaceae). The species was collected only on low growing vegetation and was very rare.

Diagnosis.

See the diagnosis of *O. palus* for the morphological comparison with the related species.

A single female specimen of *T. cf entadae* was collected. This specimen mostly fits with the description of *Taylorilygus entadae* (Taylor, 1947) but in the absence of a male we prefer not to confirm the identification.

References.

Logarzo G.A., Williams L., Carpintero D.L., Plant Bugs (Heteroptera: Miridae) Associated with Roadside Habitats in Argentina and Paraguay: Host Plant, Temporal, and Geographic Range Effects, *Annals of the Entomological Society of America* 98(5) (2005) 694-702.

Poutouli W., Silvie P., Aberlenc H.-P., Hétéroptères phytophages et prédateurs d'Afrique de l'Ouest, Editions Quae, CTA, 2011.

Snodgrass G.L., Henry T.J., Scott W.P., An annotated list of the Miridae (Heteroptera) found in the Yazoo-Mississippi Delta and associated areas in Arkansas and Louisiana, *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 86 (1984) 845-860.



***Taylorilygus apicalis* (Fieber, 1861)**

Systematic.

Subfamily Mirinae Carvalho, 1959

Tribe Mirini Hahn, 1833

Genus *Taylorilygus* Leston, 1952

Synonymy.

Phytocoris pallidulus Blanchard, 1852: 193 (descr., Chile)

Lygus apicalis Fieber, 1861: 275 (descr., Spain)

Lygus osiris Kirkaldy, 1902: 262 (descr., Reunion Island)

Lygus osiris Kirkaldy, 1902: Poppius, 1910: 39 (syn.)

Lygus apicalis innotatus Poppius, 1912: 101 (descr., Tanzania, Madagascar)

Lygus apicalis rufoviridis Poppius, 1912: 101 (descr., Cape Verde)

Lygus apicalis unicolor Stichel, 1958: 860 (n. name for *Lygus apicalis innotatus* Poppius, 1912, junior primary homonym of *Lygus innotatus* Reuter, 1871)

Taylorilygus pallidulus (Blanchard, 1852): Carvalho, 1959: 265 (cat., Mozambique)

Taylorilygus pallidulus (Blanchard, 1852): Carvalho *et al.*, 1960: 474 (South Africa)

Taylorilygus pallidulus (Blanchard, 1852): Odhiambo, 1968: 628 (Cameroon)

Taylorilygus pallidulus (Blanchard, 1852): Linnavuori, 1973: 71 (Democratic Republic of the Congo)

Taylorilygus pallidulus (Blanchard, 1852): Linnavuori, 1975: 35 (Sudan)

Lygocoris (*Taylorilygus*) *pallidulus* (Blanchard, 1852): Tamanini, 1981: 41 (ecol., Italy)

Taylorilygus pallidulus (Blanchard, 1852): Snodgrass *et al.*, 1984: 857 (ecol., U.S.A.)

Taylorilygus pallidulus (Blanchard, 1852): Linnavuori, 1986: 141 (Saudi Arabia)

Taylorilygus pallidulus (Blanchard, 1852): Linnavuori, 1989: 31 (Yemen)

Taylorilygus apicalis (Fieber, 1861): Kerzhner, 1993: 99 (valid name for *Taylorilygus pallidulus* (Blanchard, 1852), a junior primary homonym of *Phytocoris pallidulus* Dahlbom, 1851)

Taylorilygus apicalis (Fieber, 1861): Eyles, 1999: 330 (ecol., fig., New Zealand)

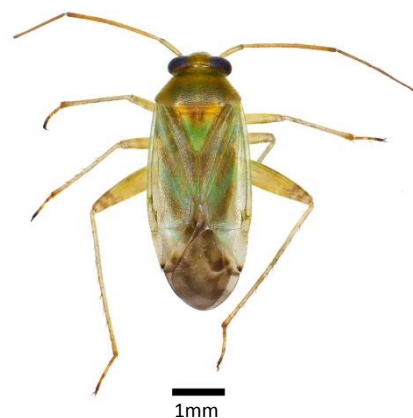
Taylorilygus apicalis (Fieber, 1861): Hernández & Henry, 2010: 86 (ecol., Cuba), 167 (fig.), 187 (fig.)

Distribution.

Cosmopolitan. In the Afrotropic ecozone, this species is reported from Cameroon, Cape Verde, Democratic Republic of the Congo, Madagascar, Mozambique, Reunion Island, Saudi Arabia, South Africa, Sudan, Tanzania, Yemen.

Biology.

Taylorilygus apicalis is a phytophagous species, which has most frequently been reported on Asteraceae (31 species in the U.S.A., 28 species in Argentina and Paraguay, five species in East Africa, three species in Italy and one species in Cuba) and on one or a few species of Amaranthaceae, Apiaceae, Brassicaceae, Calyceraceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Cyperaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Genariaceae, Lamiaceae, Lythraceae, Malvaceae, Onagraceae, Poaceae, Polygonaceae, Portulacaceae, Ranunculaceae, Solanaceae and Verbenaceae (Eyles, 1999; Hernández & Henry, 2010; Logarzo *et al.*, 2005; Snodgrass *et al.*, 1984; Tamanini, 1981). In South America, the main host of *T. apicalis* is *Parthenium hysterophorus* L., 1753 (Asteraceae). *T. apicalis* is also often present on *P. hysterophorus* in Reunion Island (pers. obs.).



T. apicalis is known to be a host of the mite *Lasioerythraeus johnstoni* Welbourn & Young, 1987 (Prostigmata, Erythraeidae, Erythraeinae) in the U.S.A. (Stroiński *et al.*, 2013) and of the wasp *Leiophron argentinensis* Shaw, 2003 (Hymenoptera, Braconidae) in Argentina (Williams *et al.*, 2003). Only one species of Erythraeidae, *Abrolophus* sp (Abrolophinae) has been collected in Reunion Island (Quilici *et al.*, 1997) whereas two species of *Leiophron* Nees, 1819 were recently described there, *Leiophron sarahae* Rousse & Braet, 2012 and *Leiophron yaeli* Rousse & Braet, 2012 (Rousse & Braet, 2012). No host is known yet for either of these *Leiophron* species.

In this study, *T. apicalis* was collected on *Mangifera indica* L., 1753 (Anacardiaceae) and *Parthenium hysterophorus* L., 1753 (Asteraceae). The species was collected on both mango and low growing vegetation but was rare in both cases.

Diagnosis.

See the diagnosis of *O. palus* for the morphological comparison with related species.

References.

- Eyles A.C., New genera and species of the *Lygus*-complex (Hemiptera: Miridae) in the New Zealand subregion compared with subgenera (now genera) studied by Leston (1952) and *Niastama* Reuter, *New Zealand Journal of Zoology* 26 (1999) 303-354.
- Hernández L.M., Henry T.J. 2010. *The plant bugs, or Miridae (Hemiptera: Heteroptera), of Cuba*, Pensoft Series Faunistica No 92, Bulgaria, 2010.
- Logarzo G.A., Williams L., Carpintero D.L., Plant Bugs (Heteroptera: Miridae) Associated with Roadside Habitats in Argentina and Paraguay: Host Plant, Temporal, and Geographic Range Effects, *Annals of the Entomological Society of America* 98(5) (2005) 694-702.
- Quilici S., Kreiter S., Ueckermann E.A., Vincenot D., Predatory mites (Acari) from various crops on Réunion Island, *International Journal of Acarology* 23(4) (1997) 283-291.
- Rousse P., Braet Y., Braconid wasps (Hymenoptera) of Reunion, 1, Euphorinae (including Meteorini): key to species and description of six new species, *Zootaxa*. 3449 (2012) 26-46.
- Snodgrass G.L., Henry T.J., Scott W.P., An annotated list of the Miridae (Heteroptera) found in the Yazoo-Mississippi Delta and associated areas in Arkansas and Louisiana, *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 86 (1984) 845-860.
- Stroiński A., Felska M., Mąkol J., A Review of Host-Parasite Associations between Terrestrial Parasitengona (Actinotrichida: Prostigmata) and Bugs (Hemiptera), *Annales Zoologici* 63(2) (2013) 195-221.
- Tamanini L., Gli eterotteri della Basilicata e della Calabria (Italia meridionale) (Hemiptera, Heteroptera), *Memorie del Museo civico di storia naturale di Verona, ser. 2, A 3* (1981) 1-164.

Annexe 4

Liste des primers issus de la mise au point de la banque microsatellite d'*Orthops palus*

Name of reference sequence	Length of PCR product	Sequence of Forward primer	Sequence of Reverse primer	Number of repeat	Repeat motif	Polymorphism status
cons1056_2_A_0	251	ACCTAAAGTAACTTTCCCTGATTGA	CCCGCAGTACTAATTGTGAATTT	12	ag	Polymorphic
cons1056_2_A_0	250	CCTAAAGTAACTTTCCCTGATTGA	CCCGCAGTACTAATTGTGAATTT	12	ag	Polymorphic
cons1056_2_A_0	250	CCTAAAGTAACTTTCCCTGATTGAA	CCCGCAGTACTAATTGTGAATTT	12	ag	Polymorphic
cons1056_2_A_0	221	ACTTCACAGTGACTTCAATAAGCAA	CCCGCAGTACTAATTGTGAATTT	12	ag	Polymorphic
cons1167_2_A_0	231	ACCCATCAAACCAACTCTGC	AAAACAACCGCTTGAAGAGC	14	ca	Polymorphic
cons1167_2_A_0	268	GGCGCTCTCATCTGAAATGT	ATCAGACAAACCAGGCGGTA	14	ca	Polymorphic
cons142_4_A_0	251	TGGGACATCTAGACTTCACCT	ATTACTTGACATGGGGCAT	12	gt	None fonctionnal
cons142_4_A_0	250	GGGACATCTAGACTTCACCTG	ATTACTTGACATGGGGCAT	12	gt	None fonctionnal
cons142_4_A_0	127	TCGGTTGAGTGAGCTAAAATTG	GCGACCTACAACGTGAGATTC	12	gt	None fonctionnal
IGLN4O404H5BWU_A_0	140	ATGTCCATGGAGCCGGAG	ACACCTCGAGGCTGACCT	15	ag	Polymorphic
IGLN4O404I0Z4K_A_0	198	AATGCAGATTCGCCATTTTC	TCGGTTCCTAGCCATGTAG	8	ag	Polymorphic
IGLN4O404I5LQM_A_0	294	GAGATCTCTCTATATCGTAACATTT	TGTCGTCATCTCCATACTGATAGA	7	ac	Polymorphic
IGLN4O404IBYQS_A_0	299	GTTTCGCAAATGCCTAGTTCC	TCCCTGCCTGGACAATACTT	10	tc	Polymorphic
IGLN4O404IDL5_A_0	110	GGCTAATGCATAGCTCCTGG	CAATTTGGTTCGCTGTCTG	12	ct	Polymorphic
IGLN4O404IFVG6_A_0	140	ACCACATTGTCTGTCAATGTACC	CCTAAACTTCAATTTTCAACAAGATG	9	tc	None fonctionnal
IGLN4O404IGRO6_A_0	115	CACCAAGTGCTACATGGCAA	CACCTTCAAGACAACCCGTC	15	ca	Polymorphic
IGLN4O404IHWLM_A_0	118	TCCTACAGCTAATACAGCGATCC	ATGACTCCGTGGCTCCAATA	15	ca	None fonctionnal
IGLN4O404IJK6I_A_0	140	TACTCCGTTGTATCACTACCCG	ATACAAGACTACCCGACGCC	9	tc	Polymorphic
IGLN4O404IT74W_A_0	147	TACCGACGTTTGTCTGTACC	ACCAACCCTTCGTTCCCTAT	10	tc	Polymorphic
IGLN4O404ITXYS_A_0	140	ATCAAGTCTTAATACAATCACCTCAA	GTCCAGGACACCTTGCC	10	gt	Polymorphic
IGLN4O404IUIXZ_A_0	240	CCTGAATACCTTTGTAAAATCCTTT	ATCAATGATGGAGCAGGGC	11	ct	None fonctionnal
IGLN4O404IY3SI_A_0	157	GGCAATAATGTTAGAAGCAAACG	TGATGTATATGTCTATGTTTTGTTCA	11	ag	Polymorphic
IGLN4O404IZLIQ_A_0	293	TAATGATCATATGTTACTGACTTTTGC	ATAGGCGATGAATGGTCCAC	8	ct	None fonctionnal
IGLN4O404JGTSF_A_0	109	TAATTTTGTTCAGGCCCA	ACCAACGAAGAGCGAGAAAC	10	tc	Polymorphic
IGLN4O404JJBFI_A_0	139	TTTTAGTTCGCTGTCTGTCTGTG	AACCGACCACAATACCCTC	11	gt	Polymorphic
IGLN4O404JRSYR_A_0	178	CGGTAGGAGGAAGGATGGAT	GGCTTGAGTCACGAATACAG	13	ac	None fonctionnal
IGLN4O404JWSX9_A_0	191	AAGGAGGAATCCAAATGAAGG	GGGAGGCCCTTCATAATCAC	8	ga	None fonctionnal
IGLN4O404JXV1V_A_0	248	AGCTCTCAGCTCTTCGAGAAA	GGTGATTGATTAGCAAACCG	10	ag	Polymorphic
concat545_A_0	202	ATTTTACCCACAGAATTTTGAAGA	CTCCGCTCTGATCAACAA	8	tc	None fonctionnal
cons232_3_A_0	159	ATATCCACCACCTCCCGAA	TGGATCTGATGACAGCATGG	17	tg	Monomorphic
cons308_3_A_0	297	TCCAGATGATCTGTGAAACC	AAGACGAATTTATCTTGGGAGTG	9	ag	Polymorphic
cons354_3_A_0	154	TTCATCATCGGGAAGAGGTC	CTTTATATTTGTCGTTTATTCGAAAG	10	ac	None fonctionnal
cons357_3_A_0	191	CTGCGCTAGCTCTAAGTACAAGT	GGTATTCTTAAACGTAAGTCTCAAC	9	ag	Polymorphic
cons366_4_A_0	140	GGGAGCAATAGGATTTCTGG	GAAAGAGAAAGGAAGGAAGGG	10	tttc	None fonctionnal

cons463_5_A_0	287	CCGAGTTTGCCAAAGTTTTC	TAAACGAGATTCCGCGAGTT	8	tc	Polymorphic
cons539_2_A_0	213	GTCACAGCCAAACAGTGGTC	TTCCCAAACGTAATCATCCC	8	tatg	None fonctionnal
cons683_4_A_0	205	TCACAAAGACAACGATATTCAAA	TTGTTCTGAGAAGTACTCTGTAAG GT	9	ct	Polymorphic
cons690_2_A_0	150	TTTTCTTGAGTTGGCACCT	AATTGTCATCTTTCAAGCAATTA	11	ag	None fonctionnal
cons758_3_A_0	129	TTCATTTGCTGAGGAATTACAAG A	CGTAAATAAGCAAGCTCTTAGACT GA	9	ct	Polymorphic
cons819_2_A_0	176	ACCGCCCTATAGGTAGGC	TTGTAACGAAGGGAAGACGG	11	tc	Polymorphic
cons904_2_A_0	190	TGCTTGATTCCAAAGGTTCC	GGGTAATAAGCTAAAACCTTCTCT TTC	9	ag	None fonctionnal
IGLN4O404H571B_A_0	121	GAGGGAGTTGAGGACCATGA	CGTTGTTCCATTTACGTTG	5	caa	
IGLN4O404H5BXI_A_0	90	CTTTCTGGACCTAATCTCAACCA	GGTGAATGTCTGTGAGTGTGTG	18	ca	
IGLN4O404H5TT5_A_0	138	GGGGGCCACCTAGGTAGATA	TTCTACCAGCCGTTGCTTCT	5	tc	
IGLN4O404H5U13_A_0	126	TTCAAACCTCACAAACGGCA	TATTTGAAAAGCAGAGCGG	9	ctt	
IGLN4O404H6V9I_A_0	139	AGGATATAAGGGCCAACGGT	TCTGAAGCAAGCATGCAGAG	5	tct	
IGLN4O404H6W5R_A_0	90	CCTACGCCCATCAGGGTAT	AGTTCCTCGAACTTCTAATGCCTG	6	aag	
IGLN4O404H70RL_A_0	132	AGAAGATAACCGGTCTGGGC	GGTCAGACCTAGGAGCAGCA	6	aga	
IGLN4O404H7N87_A_0	145	TTTAGGAGAGGCCGGTGTATT	TCCTCAACCACCTGTATTACATAT T	6	gag	
IGLN4O404H7S54_A_0	177	ATGAAGAGGGGACTGAACCA	AACTGCGGATTCTGCTTGTC	5	caa	
IGLN4O404H8R6X_A_0	97	CATGGAAATCCGTTTTGGAA	GCTTCCTAGCTCAAGTTATCGTC	5	tatg	
IGLN4O404H8S23_A_0	295	AGCTACTACCACATTTATCCTACA GC	GAAACGGATAATTTAACGGTAGG T	6	ttg	
IGLN4O404H8SRA_A_0	116	CCACGTCCATTACTAGGCGA	TCAACAAGACTTCACACGTGATT	6	aag	
IGLN4O404H9QM4_A_0	128	CCGCCCCCTTCATTAATTAGC	TCTGATTTGAAATGGAGGGC	6	ctat	
IGLN4O404H9XEB_A_0	138	GGGGCTGTAGAGCCAAACA	AACGGAAAAGTTCAAGCAGAG	5	aag	
IGLN4O404I0082_A_0	103	ACATTCGACTGAATCCCCAG	GGCCAGTATTCATGTGGATG	5	agat	
IGLN4O404I024Y_A_0	165	AAATTCGAATTCGTGCTG	TTTGTTGACGCTGAAAGACAA	7	gt	
IGLN4O404I05BP_A_0	185	TTGAAAATTGCAATGGAAAGTC	TCAGGCCCTCTGCTGATTAT	5	ctt	
IGLN4O404I0JT6_A_0	99	GGCATGTACACGAAAATTGG	AAAAACAACATAAACCACTGAG	5	gaa	
IGLN4O404I0R9L_A_0	190	AAAGAGATAGTGCGGTGGCG	TAAGAGATTGCCCTAATAATCTTCA A	5	gaa	
IGLN4O404I0WA9_A_0	187	CAAGTGGGTGTGGCACATAG	AATTGCACTCCCTCGTTC	7	ctt	
IGLN4O404I159S_A_0	112	TTGATCAATCCCAAACTACCA	TGGTCTGAGGAGGTTGGTCT	7	ttg	
IGLN4O404I1A6V_A_0	112	ACCTCTGTGCCTCTGTGCT	ATGACGGGAAGACTGCAGAA	5	ct	
IGLN4O404I1E03_A_0	101	CGAGCGGTGAGTTTTCGTA	CACTAAGGGCACTAAGGCGT	5	ttg	
IGLN4O404I1OKS_A_0	129	ACAATCCAGCGCAACCTAGT	TTGTTTTCTTTGTCATTCTGTC	5	gaa	
IGLN4O404I2GZC_A_0	147	AATTTATGTTCTCTGCTGCG	TGTCCATTTCTGAATCATTTAAGC	5	ga	
IGLN4O404I2SIR_A_0	90	TTTCCTCATTAATCGTGATTG	TGTTGTGTTGTTGGTTATGGG	5	ac	
IGLN4O404I2ZDF_A_0	98	AACACATCAATTTGTAGGGATTT C	AGCAGGCATGCTAGCTCTTC	9	ga	
IGLN4O404I316N_A_0	146	AGGCAATTGATTTCTTCCTTG	ATGGCAAGAATCGGAGAATG	5	ctat	
IGLN4O404I32J6_A_0	140	GCCTTTCAAAGCACAGGAA	GAAAGAGAAGAGGGGGAGATT	5	tc	
IGLN4O404I34W3_A_0	92	ATATGTGGTCAATGCAACGC	CGAACGTACCTAAATCACAGCTC	5	aac	

IGLN4O404I3AIK_A_0	130	ACTTGTGACCTGCGCTCTCT	CACAGTGGCTGTTCTTCCAA	5	ttg	
IGLN4O404I3LKV_A_0	101	TAGGATGAGGCAAACCTGGGT	CCTGTCTCTCTCTTAATCC	6	agg	
IGLN4O404I3TGN_A_0	93	GGCTAGACAGCGCACACAA	CCGTTACAGACCACTTCTGACC	6	ca	
IGLN4O404I44FD_A_0	166	AAATGTTACAGGATTGTCTCG	ACAGCAGCCGCTATTGATTCT	5	ttg	
IGLN4O404I4M9Y_A_0	90	AACAATTTTCATTTCTGTACTGT	TCCCGTTTACTAAGGATTGTC	7	tg	
IGLN4O404I4NEI_A_0	95	CTCTTCTATCTTCCGCCGC	CCTCTTCTCTCTTCTCTCC	8	gag	
IGLN4O404I52WT_A_0	113	TTTCTCCCCTCCCCTCTCTA	AGCAACAGTTGACAATAATATCTCC	7	gt	
IGLN4O404I5DFP_A_0	96	CATCATTGCTCACGGTTTTG	GGAATCATTCTTCACGAAATCA	5	taga	
IGLN4O404I5GIT_A_0	106	AGCCATAAATCATCCACCTCA	ATAAGCCACGGTTTCAGTGC	5	atag	
IGLN4O404I5IYP_A_0	109	TGTGTTTCATGACAAATAAACGA	GGCATGTGCAAGTGAACAGA	11	ttc	
IGLN4O404I6HPU_A_0	92	TTGTTGAAGGAGGCCTTGAT	CTCATGTTTTCCCCAGCATT	6	aag	
IGLN4O404I6LVV_A_0	93	GCTCTCTGAACGAACTTGG	TGAACACTTTGATTATCCCA	10	tct	
IGLN4O404I6PB8_A_0	317	CCAACGCAAAGTCTCAGGT	TGAGTAAAGGAGGTGTGCCC	11	ttc	
IGLN4O404I6XJD_A_0	121	TGACAACACTCACCAACAA	CATTGAGCAAGGTAGAATGTTAGC	8	ca	
IGLN4O404I7MXJ_A_0	238	AGATGTTTAGCGCAAGGTGC	ACGGATGAATTCAACGGAAG	5	gtt	
IGLN4O404I7Y8Q_A_0	124	TCAGCAATTTATTTGGATGGG	CCGAACAGCTGTCGAGTACC	6	aag	
IGLN4O404I8IV1_A_0	246	CTCCACTACTTCATTTGTTGTCTAA A	TGTGGTGTGCGATTAGTGGGT	6	gaa	
IGLN4O404I8PNA_A_0	201	CTCAGCCAGTATCGTTTATCCC	CCTACCTCCATGTTCCACCA	5	gtt	
IGLN4O404I929C_A_0	133	ACGGAGGTGCCAACCATA	CCCTATTTATGTGAATAAAGTGGTT GT	8	ag	
IGLN4O404I99YL_A_0	176	TTTCACACGTTGTGCTATGGA	CCATCACTGGAGGAGGTTGT	5	caa	
IGLN4O404I9ALJ_A_0	96	AGCCTCCTGAACAATTTTGG	CAAAATCGACAATAACTTCGTGA	7	gt	
IGLN4O404I9BGY_A_0	157	GCACAGATGTTCTGTACGCG	TACCATGCATGCTGTTTCA	5	aca	
IGLN4O404I9H8A_A_0	190	ACCAAGGATACCACCTCG	TCACGCCGAGTTTACTTAAAGA	5	ttc	
IGLN4O404I9M4K_A_0	114	AAACTGGCGACAATTGGAGT	CCCATGTGTTTCCAGATAATTAGA	6	tct	
IGLN4O404I9TUC_A_0	140	AGATAAATGTTCCCGCTGA	AGCAGATGTCTTTGTTGTGGA	6	caa	
IGLN4O404IADKW_A_0	120	GGTTTCTGTCGTGGAATCGT	CACAAGAAAACCAGGAAAAGG	6	gt	
IGLN4O404IAI6D_A_0	101	CCACAACCTGACTTGAGAGTGG	TTTCTTGCCTTTCAGAGCCT	5	agac	
IGLN4O404IAOS0_A_0	103	TCCTTAAATCATTATCATTACCCG	CGCACCACAAGTAGTAGCGA	6	ctt	
IGLN4O404IAV2J_A_0	116	TCTCATATCGTAACACCCCTC	ACCCAAGGAGGAGAACACAA	5	ctc	
IGLN4O404IAYNH_A_0	106	GTGGCTGAGAAATGGGAAAGC	TCATCGTCATCACCTTCTTCC	5	gag	
IGLN4O404IB3JL_A_0	141	ATCCAGTGAGCATGCACAAAC	TTCCGTTCAAATTCATTCGG	6	atgt	
IGLN4O404IB5TH_A_0	153	AGCAGACATGTAAATATGCTAGT TC	GGCGGGTAGAAGGAAGAAGT	8	tc	
IGLN4O404ICX3E_A_0	137	CATGAGCTCAGTACAATGCG	CACTATGCGCTCCAACCTC	7	ctt	
IGLN4O404ICXJU_A_0	124	TACTGCCTTTTGGCGCTATT	GGAGAAGACTCCGGACACAG	7	gtt	
IGLN4O404ID2BS_A_0	182	TGAAGACTACGCGGTTGTTG	CCGTCTCTGCTGAAGGATTCT	5	gaa	
IGLN4O404IDCY2_A_0	164	GGCCAGTGTGTCTGTAACG	CTTGCCAAACGTGCAATTTA	8	ac	
IGLN4O404IDIH2_A_0	147	TGTACCATCTAGCATCACGCA	TGAAGATCTCAGGCCCTAGC	5	aca	
IGLN4O404IDQCH_A_0	90	TGTAAATCTTACATGGACCTACT CC	ATGGACGTATGGAAACGCA	5	at	
IGLN4O404IE7N2_A_0	96	CCGAAAGTCAGCACTGTGAA	TCATCAGCAGTTATCCTCGG	5	caa	

0						
IGLN4O404IEAPW_A_0	158	TTCCCCTTCTCTTTTCAGAC	CGAGAAAATGGAAAAGCGAG	5	tc	
IGLN4O404IENKA_A_0	253	GCTGGCAACATACGGAAAGT	GCGTCAAGTCCCATTGTTGT	8	aga	
IGLN4O404IF8O6_A_0	185	GGCCTATTGTCAATTCGAGC	CTGTTCCGAGTCTTCATCCC	5	aga	
IGLN4O404IFKFF_A_0	181	GTTCTCAACGAAAAGTGGG	TGAATGAGAAATGTCTGTTGAAA	6	caa	
IGLN4O404IFKWD_A_0	159	GAGAGCTGCAGATGGGTTGT	TACCATTTTGGACCCGTCAT	6	agt	
IGLN4O404IFNEL_A_0	122	TTGAAACGGCTTGCAAAATA	CACCATTTTACCACGACCTT	5	cata	
IGLN4O404IG64E_A_0	90	TCCATGGATTGGATTCTGT	GCCAGACAGCGTTGGTGT	6	gaa	
IGLN4O404IG90G_A_0	146	TGAAAGCACGTAATTCAAACG	CTTCTAGTGTATCGGCAGC	7	ga	
IGLN4O404IGD72_A_0	199	CAAACGGTTATCTTCGTCTG	AGCTTTCAACCAAGCTTTCG	6	tct	
IGLN4O404IGIAT_A_0	98	TGTCCCAAGGGTGAAGACTC	TCCTTTCTTCTCTCTCTCC	18	tg	
IGLN4O404IGQRR_A_0	190	TTTCGATAATAGACTCTTTTGAGACT	GTTCAAATACTCTACGATGACGAT	6	tc	
IGLN4O404IH0Q8_A_0	94	GGTGTGGATCAAGGACGAC	ATGAAGAACCTGAAATATGAGAAGTAT	7	ac	
IGLN4O404IHAAQ_A_0	90	GTCGCCCAATAGTTCAATG	TTCCATCAAAACCTACCCAA	8	tg	
IGLN4O404IHFAI_A_0	90	AGGGTCCATTATTCGTTGA	CATCTGGCAGATCTCAAGGT	6	aag	
IGLN4O404IHN9U_A_0	91	GTGGGGAGGTGTGGCAAG	TGATGGTGTGGGTTGTGT	5	caa	
IGLN4O404IIS5W_A_0	154	GGAATTGGGAGAAGTGATGG	GCACAGACCTCCCTATCAACC	9	agg	
IGLN4O404IIANT_A_0	137	TGATGCGTCTCTCAAGGC	TCTACAAGAGGGCTTGGGAA	5	tcc	
IGLN4O404IIIM0_A_0	140	GGATGTCAACTAGCTTCCCTCA	AATAGAAGTTTCGCAACAACAGC	7	tct	
IGLN4O404IIITP_A_0	190	CCACAGAACAGATCTCATCAGACA	TATGTTATATGATGGCCCTCTCAG	5	ctt	
IGLN4O404IIOAO_A_0	103	CAGTGATACATTGGACGCCAC	GGTCTCGCTAGCAGGTTGTT	7	ctt	
IGLN4O404IIZJW_A_0	209	CTTTCTCCCTCCTCCCTCT	TGGATTGAAAAGTGACGAAGAA	9	ttg	
IGLN4O404IKAG4_A_0	176	ACTGGTTTCACCACTCGGTC	TGCTGAACAAAGAACCACCA	5	gaa	
IGLN4O404IKBUC_A_0	99	CAAACAGCGAACAACCAACA	TTGTTGTAGATGTTTCTAAGGTTT	7	aac	
IGLN4O404ILJNR_A_0	114	CAGATGGGCTTGTTTTGTT	AGGATGTCGGTGAGGATGAG	5	tct	
IGLN4O404IMQ8A_A_0	103	CTGCAAACCTCCCAAGAATC	TCGCTCATTGACTCATGCTG	8	ca	
IGLN4O404IN3SW_A_0	102	GCCAAAATACCAAACCAAGGA	CGAGGAGATAATATAACGATGAAA	6	aga	
IGLN4O404INAU2_A_0	102	CACCACAAGTAGGCCTTCCA	AGGAGAATAAGCGGGAATGG	5	tcc	
IGLN4O404INOL3_A_0	144	CCATGATTATTACATGTGGAGATT	CGTGGAACGTACACCTCT	8	ctt	
IGLN4O404INY80_A_0	152	CCTACGCGTTATTGGTAGGA	CAAAATTCAAAACCCCAAGG	8	gata	
IGLN4O404IO7G7_A_0	99	ATGACTCTCAATCATCTGTTGG	ACGACTGCACAACGCTCTAC	5	tcc	
IGLN4O404IOOQK_A_0	92	AAAACAGCTCCTCCAATGCT	GAGTAACTGGAGTGATTATTGCTTGA	7	caa	
IGLN4O404IOQK4_A_0	90	GCAATATCTGCCTTTTGACACG	CGAGTATGGGATCAACAACG	6	gtt	
IGLN4O404IOVLU_A_0	104	AGAACCACAGCAGTCGAATA	CCATCACTGGAGGAGGTTGT	11	caa	
IGLN4O404IPF51_A_0	90	CAGTGCATCTAAGCTTTAGACATC	CTTTGTGATGAGATGTTTTGG	5	ttg	
IGLN4O404IPT2M_A_0	140	ACAAGGCTAAAATTCGCTTGAA	AGACAAGTTAATATCGTTTCACCTC	7	caa	
IGLN4O404IQR8Y_A_0	247	ACCAATTCGCGTTAACAATG	TGGTTTCTGCTTCTCCTTGG	6	agg	

IGLN4O404IR29T_A_0	142	ATAAATCAAAAGTTATTCGCGATC C	GTTACTCCATGGATGCAATGT	6	tct	
IGLN4O404IRAMO_A_0	117	CAAATTTGAACCTTGATGATGCAG	CAGAACTATAACGCAGTTTATTGA T	6	tatc	
IGLN4O404IRXWH_A_0	93	CGACACAGACGCCAGTGATA	TCGACGAGACAAGAGATAAACG	5	ga	
IGLN4O404IRZAI_A_0	122	CTGCTTCCTGAAGACTTGTACC	AGTGGAAGCAGGTGCTGA	10	aca	
IGLN4O404IS0RV_A_0	91	CAACTCAAACTCTTACTTCTTTCC	TTCAACCATCTTATCTCAGCAA	7	ctt	
IGLN4O404IS6W7_A_0	164	AGGCAGGTAGAAATTTGGTGG	CAAGTCACTCAGGATCATATTAAG ACA	5	gtt	
IGLN4O404IT1X0_A_0	150	ATCGCTGTTTCAAACTCATTT	CGTCACTTGTTGTGGCAAT	5	ctt	
IGLN4O404IT8SW_A_0	190	ACTGAACCCACTATTGAAATAGGC A	TGACGTCACATTTAGCCCTG	5	ctt	
IGLN4O404ITJH2_A_0	118	GCAGATCAGAAGTAAGTGATCAG G	CCTATTTTGAACTATGCTCGC	8	ag	
IGLN4O404ITK2A_A_0	126	ACCTGGGAAACCAATGTTTG	GGGAATGATGGATAAAATTCG	6	aga	
IGLN4O404ITUSL_A_0	108	CACGCAACATAAACTTGTTTGG	TCGTCAACCGGATATCTTCC	8	ctt	
IGLN4O404ITWCB_A_0	94	CACATTTCAAATTTCCCGCT	TAAACACCTATGGTCACCCGA	7	ttc	
IGLN4O404IUFVX_A_0	104	TGTTTACCCAGTCAGGATCG	CGACGAGGAAGTTCATCAAGA	5	tct	
IGLN4O404IUki6_A_0	196	GCACAGAAGATAGGTAGGCTGA	TCATTTGCCGTTGAAGACC	5	aac	
IGLN4O404IUQGB_A_0	98	AATCAGTTAAGGCAAGGGCA	TTTCAGACCATTCTGGACCC	5	ac	
IGLN4O404IV6JU_A_0	116	CCGAACAAGGTTCTGTAACAA	TTGATGAAATTAGACGATTATGAA AA	5	gtt	
IGLN4O404IVABZ_A_0	149	GCCTTCATAGCGCAGTTGAT	TTGTTGTGTTGTTGGGTTTCG	5	caa	
IGLN4O404IVM4I_A_0	143	AAGGACTTGGTATAACATCATCA TAA	TCTTTGGCTTTCATATGTTCTCA	7	caa	
IGLN4O404IWEOP_A_0	246	CTCTACCCAGGACATTGGACA	CTAGCTCGAACCTACCGGC	6	gaa	
IGLN4O404IWGWI_A_0	99	TCAACGTCTCTTTTGCAATTGA	CAGCAAACACCGTACTACTCCA	10	ac	
IGLN4O404IXF78_A_0	94	GTGGGAGATCCACGAGAAGA	AATAATTAGGGCTGAGGGGG	5	aca	
IGLN4O404IXOTH_A_0	193	GGAGGAAGAGGATGATGGTTG	AGTATCGCGGACTTTGAAGG	5	ag	
IGLN4O404IXU9A_A_0	135	AACACCAAGTCCAACCTCAG	TTGTTTCATCAGCGGACGTAT	8	gag	
IGLN4O404IY0B9_A_0	137	ATAGGCTGATATGCCAACG	CTTGAATTTTCAGGATGGGA	5	aag	
IGLN4O404IY7S2_A_0	142	ATCCAGGGAAATATAGCTAACCG	CCTCAACCGTTTAATTCAGTTTG	6	aag	
IGLN4O404IYI4M_A_0	161	CTTACGTTGGGATCCTCCCT	ACCTCACAAACTCGACACC	6	tgt	
IGLN4O404IYJUX_A_0	193	GGGATGTTTCAGGAGAAATGTT	CAGCAACTGAGTAGGTAGTGTTT	6	ag	
IGLN4O404IYMNI_A_0	94	TACAACAACTACGAAACAACCA	TGTAGGTGTCATGACTTTGGTC	6	aag	
IGLN4O404IYZJZ_A_0	107	AACACCGCACTGTGTTTTGA	CAACCGATTGAGCAAGTGAA	5	taga	
IGLN4O404IZ3FN_A_0	96	GAAGCTATATTTTCGCTCTCGC	CCCTACGTCGGTCGAGAAT	9	ct	
IGLN4O404IZ4EG_A_0	122	GAACTTGGAGTCCCATTTGTT	ACAACAGTCGTCGAGGGAAA	6	ctt	
IGLN4O404IZ7HB_A_0	130	TTTCGATGAAAAGGCAGTCA	GCTCTGTACTGTTCCCTAGTCC	5	tct	
IGLN4O404IZDHR_A_0	129	TCAAACCTGGATTCAACACCC	CCATGAAGTTACTGCACAGGG	6	ga	
IGLN4O404IZV56_A_0	137	CTCTGGTTCCAATTCATCCC	GTGGAGGAGGCGTCATATTG	6	cct	
IGLN4O404J02FK_A_0	100	TTCATCCTTATGGAGCACCTG	GCAGTAATTCGAAACATAACTCAC A	5	tcta	
IGLN4O404J04WO_A_0	115	AACGCACGAATTCAAGACAA	CCACTTTCCTGACGACACT	6	ctt	
IGLN4O404J0TRK_A_0	165	ATCGGTTGAGAATTTTCGGA	TGTATGTGTAGACAATTTTCGG	7	gaa	
IGLN4O404J1ZM2_A_0	140	GTTGTTGGTTTGATTTTGAAGG	GACATGTGTTCTAATGTACCTACC	8	ga	

IGLN4O404J26GW_A_0	103	GAGTAAAGGCTAGGCTTGGG	GGCCTATTCCAGGACATTCA	5	atct	
IGLN4O404J2AT9_A_0	100	TAGTGCCAAACGTACGAACC	AGCTCATCTCGTATCAGCCA	8	ct	
IGLN4O404J2AVW_A_0	109	CTCCTCCCTAGCTCCTCCAC	ACTTCTGGCAATGTCAAGCC	7	ac	
IGLN4O404J2B6G_A_0	131	CATGGGTATGGCTCATTGTG	TGAGACCTCCCCATTGACA	7	aga	
IGLN4O404J2G2H_A_0	91	GACAATGCTTCTCTACTTTGCTTC	CGATATGAATGGAGCAAGCTG	6	tct	
IGLN4O404J3PFT_A_0	135	CGGAGCTGATGAGGGAAGTA	GACGCATCGTCTATCCCATT	8	ag	
IGLN4O404J3PWL_A_0	142	GTTTCCATTGCTCTCGTGAC	GAGTTAATCGCAAAATGCC	8	tg	
IGLN4O404J3SUQ_A_0	133	ACAAGTGGAGGCCAACTCAC	CGCCGATCATTAGCATTACA	6	ac	
IGLN4O404J4J93_A_0	121	TCTCGAGAACGCAGAATAACG	CGTTCATGATTTGCGTAGGT	6	aag	
IGLN4O404J4MB7_A_0	110	GAGGTGGATGAGGAGGAAGA	CGCCGCTGTTTGGACATA	5	gag	
IGLN4O404J5B6S_A_0	132	GGCAATTCATCAAAATCGG	TTGCGTTTTAGACCTTCCTGA	6	ga	
IGLN4O404J5GL4_A_0	143	TAGTGATAGGGAGGGTGCGA	CGCAATCTGCAATACCACAC	5	gga	
IGLN4O404J5J2O_A_0	96	TCGCCAATTCGGCAATTT	GGATTCCAGTTTGCCATTGT	11	caa	
IGLN4O404J5QK3_A_0	144	GCCAGCGCCTCAATATTACT	ATACGCGAAACTGGACAGGA	8	ga	
IGLN4O404J5YPY_A_0	95	ACGTCTTTCATGTCCGTGT	AGGAAAGATGGAAAACGGGA	11	ct	
IGLN4O404J6BWI_A_0	140	GATTGACGTTCAAGCACAAA	GGAGTCCACTGAATGGATGG	7	gga	
IGLN4O404JA1VO_A_0	131	TTTCAAGTGGACGAAGACGA	CAATCCCTGAAAAATATCATCGAA	7	tc	
IGLN4O404JA2NT_A_0	106	TACCCGATCCAAAATATCGAA	CAATTGTCTATGCACTCTATGTTTC A	7	aga	
IGLN4O404JAAAXA_A_0	95	TTTTGGACGACTGAGTTCTGC	GCCTCTTCTCTCTCTCTACA	6	aag	
IGLN4O404JADHS_A_0	143	TATAAATGGCATCACGTGCG	GCATAAACTGCACGAAGGAA	5	caa	
IGLN4O404JAKM7_A_0	91	TGTGACGCCAGTTTGATAGG	GGATGAGGAGGAAGAAACTGG	5	ctc	
IGLN4O404JATCE_A_0	148	TGGAAGAGGGGATAAGGAGG	AACCTTCGATTGGAGACGG	7	ttc	
IGLN4O404JATCH_A_0	127	TGATGGATGTCGTCTGGTCT	GAGTCACATCTGCTCGTGGA	6	caa	
IGLN4O404JAXBY_A_0	100	CACCGTAGATTTGTAGGCCG	CGGTCATATCACTCCCGTCT	9	gga	
IGLN4O404JBF28_A_0	121	TCCTAAGAGGAGTGTGGGGA	GCGGTTATTCAAGCCAAAGA	15	ctt	
IGLN4O404JBYUT_A_0	244	TTCGAATCCCTCGTCTAATCC	GGGAATTCCTAGATTAATTGAAGG T	7	caa	
IGLN4O404JC5ZY_A_0	91	AGGAAATCCCGGAGGAAAC	ATTTGGCTTTACGTCTTGGC	6	ga	
IGLN4O404JCW2S_A_0	119	CGACGAGGAAGTTCATCAAG	TACGATCGGAAGGTTATGGC	5	aga	
IGLN4O404JE4BM_A_0	147	CTCCGGCTGACGGTTTAATA	CCGGCGTCTGTAAAGAAAAT	8	tatc	
IGLN4O404JE71G_A_0	94	ACGGAATGCTTATTGAGGGT	CGAGCGGTGAGTTTTTCGTA	7	caa	
IGLN4O404JEYOG_A_0	158	TCGTCATCTTCTTGCTCGC	TGTGAAATTTGTGAAAATGACTAA TAA	5	taga	
IGLN4O404JF47M_A_0	196	CGCAAATTAAGCCTCGACT	CAACCAATGATGCAAAATGC	6	ttc	
IGLN4O404JGNM6_A_0	111	TTTGTCACCCATAGAATTGTG	CTGGCAACACTGCTTAGTGG	6	aga	
IGLN4O404JHMKK_A_0	179	TTTCACGAATTAAGTGTGCC	TGTCTCCACGTCTCATTATTATCAC	6	aac	
IGLN4O404JHTRR_A_0	166	CAGTTGTTAGAACCCTG	CCCTTCAACTTTATAGAACCCA	8	ctt	
IGLN4O404JHV2K_A_0	162	ATGGTCCGAGCGAGTACCTA	GATTGAAAGAAGGTGACGGG	8	tcc	

IGLN4O404JI5U4_A_0	106	TAAAGTGGAACCCCTGGCTC	TGAGATAACGCATGAAACAGAAA	9	ca	
IGLN4O404JI6F6_A_0	109	CAACGGTAGTATCTCCACCA	TCAGGTCGTTATCAGGTTGTT	8	ac	
IGLN4O404JIUT7_A_0	124	CTAGTGACAATCACGGGCAA	CACGGATGTGGATTCAAACCTT	6	ctt	
IGLN4O404JIYZX_A_0	91	TACCACAGCAACACATGCAC	TGCTTTTGGTAGTTAATGTTTCTAC A	11	ac	
IGLN4O404JJ960_A_0	102	TCTTCCTCCTCCAAATCTTCA	GA CTGATCTGTCGCCAGGAG	5	gt	
IGLN4O404JJFBU_A_0	140	AAATTTTAGTAATCAGGACTGTTG TTT	ACTACCAAGTCGGCTTTGTTTTA	7	gaa	
IGLN4O404JKDZP_A_0	120	GGCACAATCCCTGAGAATTT	TCCTGGACAATTTTGGTTCTG	8	ca	
IGLN4O404JKFKZ_A_0	115	CTGGCAGACGGACGTAAAGT	TGCGTGCATATTTCTATGGC	6	ttc	
IGLN4O404JKX0_A_0	151	CAATGAGGCCCACTATTGCT	CCTTGTGAAATGTTTATGCGA	5	atag	
IGLN4O404JKKA1_A_0	169	AAACGATCTATCAAAGCCGC	ATGCAGCCTCAGCAGATTTT	6	gaa	
IGLN4O404JKLUL_A_0	140	TACACAGTGATGTCGTTTTAAGGA A	TAGTGCAGACCCCACTACATACT	8	ga	
IGLN4O404JKNH6_A_0	144	TAATTTCACTGCCTGTCTGG	GAGATGGAGGTGGAGATGGA	5	ctccac	
IGLN4O404JKUCB_A_0	129	GCGCAAGCTCCTCAAATAGT	CATCAGCTGCGTCAAAGAAA	5	ctt	
IGLN4O404JL66I_A_0	90	CCATGTAAAACTGAAAAATAAGG T	TTCTTTTATGTTTCAACCCATACC	5	at	
IGLN4O404JL66I_A_1	102	TTGTTGGGTATGGGTGAAA	ACCGTGTTCTGTTCTCTGTG	9	ga	
IGLN4O404JLH2Z_A_0	110	TGATTCACGCCTAACATTCG	GCCCTTGCTGTTCAAAAGTC	5	ctt	
IGLN4O404JMB4W_A_0	115	GTTGATTCTATGGCCAACC	TGGAAGTTGAGATTCTGCGA	7	aag	
IGLN4O404JMRVW_A_0	296	GGGAACGTTCTGGAAAATGA	CCATGTCACAAAATAAAATCAGG	5	aga	
IGLN4O404JN37F_A_0	109	TAAACCTATTGGGACCGTGG	GATTGGGAGTGTGAGACGTG	5	ca	
IGLN4O404JOO0U_A_0	92	CATCCGCTTGCTTGGGTT	GTCTTCAGAGAAATGCTGCG	5	caa	
IGLN4O404JOVFU_A_0	92	ACCCCACTAACCACTTGCAAG	CCACCTATTATGATCGGTTGAAA	5	aga	
IGLN4O404JOXPN_A_0	153	AAGTTCTGCCTTCTCCGACA	TCTTCTGCACACAAAAGACG	6	ctt	
IGLN4O404JOZ20_A_0	115	GAGTCCAAGAGGCCAGTGTT	GAACTTCCCACTGATCCCT	7	tc	
IGLN4O404JPAJ7_A_0	95	CCACTGTCTACATGGGAGCA	GCCAAGAATGGACCTGAAAT	5	aga	
IGLN4O404JPCYA_A_0	126	AGCAGCCAACCTGGAAGACAG	GCCATGTAGCACTTGGTGGT	5	aag	
IGLN4O404JPD0M_A_0	140	CTTTCGTTAGCTTCCCTTCG	AATCAGCTGTTGTTATGGTTTCA	5	ctt	
IGLN4O404JPEGL_A_0	148	AGGAAATAATGGTATTTTGACCGA	TCCTCACAGGCATTGAGACA	5	aag	
IGLN4O404JPUFK_A_0	108	CCCGACGTCCTATTTAGTCG	CCTACGCCCATCAGGGTAT	7	ctt	
IGLN4O404JPV2X_A_0	140	GACATGCTGGATAAGGCGG	TCTAAGGGGTCAGTTTCGCT	6	gt	
IGLN4O404JPVZ8_A_0	158	AAGAACCGCAAAATGGTCAC	TGCTCTGAACACCGTCACTC	6	aag	
IGLN4O404JQOXQ_A_0	240	AACTGGCACAATACTTATTTTGAC TTC	AGGGTGTGCCGAAGTTGTC	8	aga	
IGLN4O404JQZH2_A_0	247	ATTGGCATCCAATATCCGAG	TGGGAGTACCTAGGACCATGA	5	tc	
IGLN4O404JRM0D_A_0	115	TTGGCTCTTCGAATTTGTTT	CGTGGTGCAAAAGAATGTGT	6	ctt	
IGLN4O404JRVV8_A_0	122	TGGTATAAACGACTAGCAAATCAA	TTACGCGTTCGCATACACTC	5	gtt	
IGLN4O404JS2L2_A_0	109	CCAGGACAGCTTGAACCTT	TCAAATAGAAGCAAATAGTTTCGTG TC	5	aag	
IGLN4O404JSMGY_A_0	143	TGCATCCAAAATTGGCATT	TGGCGCTCAAGGTTAAACA	5	gtt	
IGLN4O404JT5DT_A_0	109	TTCACGAAGAATAGCTTAAATCG	TACGCACACTCAGAATCGCT	6	gt	

0						
IGLN4O404JT63I_A_0	299	CGGGGTTGACAACTAGGTAA	CTCTCCGCACGTACATCGT	5	tgt	
IGLN4O404JTS0O_A_0	202	ACTTGATTACTTAAATACTGGGAA GTG	TGAAGTATCGGAGTATGCTTGA	5	ga	
IGLN4O404JTUL6_A_0	139	GCAGGGTTTTCTTCCATGTT	TCATTTTCCCGCTATATTG	5	caa	
IGLN4O404JU2YQ_A_0	140	CAGCAGGACTTGTGAAACG	CAGTCCCTTTGGTGGTTGTC	5	taga	
IGLN4O404JU6HU_A_0	94	ACAACCTCCGACAAATCAGGG	AGGGACCGTCTACAACCCTC	6	gt	
IGLN4O404JUI10_A_0	134	TACATTCTCGTGGGACCCTT	GCCCGAAACATATTAGTGCG	14	cata	
IGLN4O404JUL09_A_0	101	CGAGCAATACGAACAAACTGA	TTGGAAGAAGAAGAGGAAGAAGA A	6	ac	
IGLN4O404JV77U_A_0	93	ATTGTGCAACACTGTGCG	AAAGGTGACTTCTTATCGCCA	5	aac	
IGLN4O404JVHP8_A_0	96	AGGGAAGTCACTCGGTAGTTG	CGTCGGATCTTACCTCCTTC	5	gaa	
IGLN4O404JVRW8_A_0	103	CATGCTAGCAGTTAAATCATCTGA A	TCACCTTGCCTCATCTTCAC	8	gaa	
IGLN4O404JVUA2_A_0	144	GAACTGCCAAGGGATCATTC	GGAGATAATCCCACCAAGTGC	7	tg	
IGLN4O404JWGL6_A_0	103	CAAGTGGGTGTGGCACATAG	TCGATGGTGATGCGAATAAA	5	taga	
IGLN4O404JWJ1Q_A_0	169	CCCATTGGTGTACCATGTTT	TCATCTGACCTAATGCACCG	7	ctt	
IGLN4O404JX4K5_A_0	137	TCGACAAAATGGTGGACAAA	AGCCAATCAAATGGACGAAT	6	tct	
IGLN4O404JXY48_A_0	107	TTGATTTTAGATCGGTGCCC	TTTTCTTGGGCAGCTTAAA	6	tc	
IGLN4O404JYG4J_A_0	141	TGATTCAACTAAGACGTACCTACC C	CAGTAAAGAATCAGCAGACAATCA A	5	tc	
IGLN4O404JYL0O_A_0	194	CGAATTCCTCTTAATGAAGGC	CAAGGCCAAGGCTCTTAATG	6	ttc	
IGLN4O404JYP1H_A_0	162	GAGCTCGTAATTGCCTTGGA	ATCCCGATCCGTCCAGTAGT	7	gtat	
IGLN4O404JYQXS_A_0	92	GGGGACCTCACTACCTCTCC	TGGGAACGCAAAAGAAAAGT	5	aca	
IGLN4O404JZEJ6_A_0	119	AAACTGACGCATTATGTCTTG	CTTCGAAGGACTGAACTCGG	6	atct	
IGLN4O404JZP83_A_0	96	AAAATGACTTTGGGTCGTGC	GGTTAGCTCCACCAAGCAGA	6	ttc	
concat612_A_0	99	CTGAAAAGAAAGGCAGACGG	AACAGGTCCCAGGTTCACTG	5	gaa	
concat77_A_0	143	CGTAGTGACAACTGATGCC	CCGAACATTATTGCTTGTGG	8	ct	
cons1008_2_A_0	99	CATCCTACAAAACCATCAAACC	AATATGAAGAGCTCCTGTTGTCA	5	caa	
cons1012_2_A_0	245	GGCACCTTCGTACAGAAA	AGGAAAAGTGACGGGGATG	5	gaa	
cons1023_2_A_0	108	GAGGAGGAGGTCACGAGCTA	CGGGATGTTGGGAATTGTAT	7	taga	
cons105_2_A_0	254	TACAAAATGGCGGTACTTCG	TAGCTCCTGCGGTTACAGCC	6	aga	
cons1062_2_A_0	128	TGTGGGAAAATACCATCAG	AGGTGATTGGTACGCCTGTC	6	aga	
cons106_4_A_0	114	AATATTGACAACAAATGCACTAT ATC	CCTGTGAGACCAGATATTCCA	7	ac	
cons1071_2_A_0	96	TGAATGGCAATGCATAAAGG	TGACCACCTAGGCATGTGAA	8	tc	
cons1072_2_A_0	91	AAACAATGTTGGTTCGTAGTC	TTTTGAGTGGGGCAATGAAT	5	gtat	
cons1122_4_A_0	120	TGTATAAAAGAGCCCGAAGGG	TGTGCCACTCTTACGTTGCT	5	ct	
cons1133_4_A_0	171	TTTCCTGCTGCAATCACCTA	ACATCCAACCTCACCCGAAC	7	ttc	
cons113_3_A_0	107	TCCTTGTGAAATGTTTTATGCG	GTTACAACCTCCCTCTCCC	5	ctat	
cons1144_2_A_0	140	TCCATGTACGATATTACCACGC	CGGACCAGTTTGTGATCAACTT	14	ctt	
cons1187_4_A_0	153	AAATTGATATGAAGGGTAGGAAA A	TCCGTTGTAAAAGGTGCGAT	5	ttg	
cons1197_4_A_0	99	TGTGCAAATAACACGTTATCCA	CGTTCGTATACCGCTCAACC	5	atgt	
cons1201_2_A_0	164	GGTTATGAACATCAGGAGTTTGC	TAGGGCGTATAAAAGAGCCG	8	ga	

cons1208_2_A_0	188	ATGTTTGGCCACCAAGAAG	TCCATCGAATACCCTAAGCAA	8	aag	
cons1222_2_A_0	256	TTCTTCAGGTTGCTGATAGGG	CAGACATTGGCGAATGAAGA	7	ctt	
cons1242_2_A_0	136	GGCGCTCTCTGGAGACTGTA	TGTACGAGTATTTACTATCTGGTGT CA	8	tg	
cons130_5_A_0	101	TTTGAAATCAGCGAATCTTG	TGTCCATGCACTATGTGTTTCA	8	gaa	
cons154_3_A_0	170	TGCATTTCGTAAGAGATCCGT	TGTGGCAGTTTACGTCGAGA	5	tct	
cons168_2_A_0	95	ATCGAAGATGATTGCATGGG	ATCAGCAGGAAGTACAGCC	10	tc	
cons175_2_A_0	113	TCCAGCCTACAATTTCAAGTTT	CCTCGGTCCATAACGTCTGT	9	ct	
cons181_7_A_0	160	TTTGCTTGCTTTTGGAGGC	TGGTACAACCACGTCAGCAT	5	acg	
cons182_2_A_0	116	TCTCGAGGACTCTTCAAGTCG	CGTTGGAGTATGACTGCGG	5	at	
cons213_2_A_0	103	CTTTTCCGCTCATTTCCC	AGGGAGAAAGTCTGGAAGGC	6	ctc	
cons216_4_A_0	124	CACCAAATCAAGTACCACG	CGTTCAGCTACATACTAGGGC	8	tc	
cons218_2_A_0	190	TTCACCAAAATACCTGGCA	TGTACATAAGCGGTGAAGTCC	7	agat	
cons225_2_A_0	141	ACATTCAACTAATTTCAACAAAT ACG	ATCCCTCGCTAGGTGACTGT	8	ga	
cons241_2_A_0	95	GCTTTGGCCTTTTATCTTGG	AGTAGGTCGGTCGCTAACAA	5	ttc	
cons253_2_A_0	248	GGCCCTATGCTCCTCAAG	TTTTAATCAAGTTGTAAGAGATGTC AC	5	gaa	
cons261_2_A_0	199	CCAACTTCTTACAACCCTCACC	ACTCGGAATTTACGACGAGG	5	tct	
cons322_4_A_0	94	TTGTTTCGCTTCAAAATATAGCA	TGAAACGTTGGACATTTTCGAT	7	ct	
cons335_2_A_0	93	CTGGAGAAGGTGAGGAGGAA	AAGCTTTCCCGCTTTATTGC	7	gag	
cons350_3_A_0	91	TCTTACAGACTATTGGATGTGCAT T	GTTCCCGTGAGACACCCC	5	aca	
cons371_2_A_0	91	AGCAACGATGTCAGGCTTCT	GCAGATAGTAGGAGCATTGTCGT	9	tc	
cons386_2_A_0	254	ACGCTCCTTTTGCCAACAT	CGCGTTTCTCACAATGAAGA	5	ga	
cons393_2_A_0	191	AAAGTCGCAGTTTATTGATGTTGA	CAGGATCGGGTGAGAATAGG	5	ctt	
cons399_2_A_0	274	CGCCAGATTCTGTAGAACC	GACTGGCGGACATCACTACA	6	ctt	
cons3_3_A_0	167	GTCAACCGAGCAGAGATTGG	CACACCTTCGTCTTCCATCA	6	aag	
cons436_3_A_0	146	AATCAGGGGCCACCTTACAT	GCCGAGGAAGCGTAATTAGA	5	tc	
cons449_3_A_0	144	ACACTGAAGGAATCAGCGTG	TCATAAAGATCGTCCTTTGGAA	7	tct	
cons44_2_A_0	91	TGTTACGTGAAACGCATTCAA	CTCACGAGGTCACGGCTT	5	cct	
cons47_2_A_0	145	CGGCAACACGTCAACAAC	CAAACAGAACTTGTCACGCA	6	ttc	
cons495_3_A_0	240	ACAATGACCTATACAATCAACTCA CG	ACAGGGAGGGGTGAATGA	6	tct	
cons500_4_A_0	97	AGTTTCCATGGCCTGAAATG	GGCGGAATAATTTGGTCTCA	7	ttc	
cons527_6_A_0	240	CTCGCAGGTAAGAGCTATCTTGA	TGACTCACTGGCGAGAAC	6	gtt	
cons543_3_A_0	92	TCCCACCTCTACATTCAAGTTATGA	CATTCCAGAACCATGTAGGGA	6	ctt	
cons547_2_A_0	191	TGAGAAAAAGAGCCACTGAGC	TGTCGCAACCCCTTACAGAA	5	aga	
cons568_2_A_0	93	TCCCTTCTCCATCTTCTTCG	ACGTGATGCTGGGAGTCTTC	5	tct	
cons569_3_A_0	124	AATAACAGACGCAGGAACGG	AACCGGAGTAACGCTAACGA	5	ctt	
cons582_3_A_0	150	ACCGGTAACATCAACATCACG	GCATGTGTCTCCACGAAG	5	aac	
cons586_3_A_0	147	AGCACATTTATCGCGTGTTG	TGTTTCCAGTGAAATATGGGA	6	ttc	
cons61_2_A_0	106	GGTGCACTAGCTGTTGACGA	TGCCAACGTTTGCTTGATAG	6	tct	
cons64_2_A_0	97	TTCAGGAAGTCATCACACGG	CAGGTACAGCCTTAGACGACA	7	agg	
cons655_3_A_0	190	TAAAAATACAGTTCTCGTTTTGATG TC	TTTGATCCTCTTCGGATCGT	6	gaa	
cons65_4_A_0	137	AGAGATCTGCATGGTGCCCTT	CAAATCGACAACGTGGAATG	5	aca	
cons660_3_A_0	123	ATGAGAAAGGGTTGACCTCG	CATGTGCTAACTTGTTATCTGATT	9	aga	
cons679_5_A_0	94	AGTGCACCATGGCTTACCA	CAAACAGCTCAGCACGTCTT	6	aca	

cons698_3_A_0	144	GGGTGCTTGGAGTATCGTT	GGCACAGGCAAATTGAAACT	5	agg	
cons706_2_A_0	98	GGGCAACTCTATGTGTATCCCT	CGTTTCCAGGTGGTCTTAC	10	tc	
cons711_2_A_0	144	GCTCTGATTAGTAAAAGTCAGAAC AG	CCCGTATCGCTACAGAAGGA	7	aag	
cons713_2_A_0	93	ACAAGGATTGTGCTAGGAGACAGA	CTTGACCTTCCTGAACAATG	6	ac	
cons719_2_A_0	134	ATTGATGCCACTCCCTGAAA	AGGTTGAATCAAAGCATGGG	9	gaa	
cons721_3_A_0	139	CACCTCCAACGTCTTCTTCCA	CCTTCGGGTCGTGTATTTTT	7	ctt	
cons741_3_A_0	148	GTGGCGCGAGAAGAATAGAA	AGAGGGGACGAGGAAGTAGG	17	gga	
cons755_2_A_0	315	TTGAGGCCAATGCAATAGGT	CAGCGACGAGGACTAGAACC	5	cgt	
cons759_3_A_0	140	CTTCTGCTCAGGAATCTTATAACTC	AGGATTCAAACAATTAAGCAGC	7	ctt	
cons763_2_A_0	123	AGTTGGTGCCTTGGGAAGCTA	GTGCTAAGCGAATTTCCACC	8	ag	
cons799_3_A_0	92	AACGAAATGGAGAAAAGGGG	CCTAAACTAAGTTCACAGCCTCA	5	ga	
cons805_2_A_0	102	ACCTACGCTATTACGGCACG	GAGCCCAAGAGGGCAATATC	5	ca	
cons829_4_A_0	102	TGAACTGTAAGGAGAGGCCA	CAACTCCAACGTCTCGTGTGC	5	atct	
cons830_2_A_0	92	CCAGTCTTGACGTCCTTATGC	TCTACCACCGAGTGCAACAT	5	ttg	
cons877_3_A_0	149	TTCACATGTAGATTGTGACCTAAT TG	TCTTCGTTCTGTTGGTGACG	5	ctt	
cons929_2_A_0	190	TTATACAAGTTGTGGAAGAGGGA A	AATGGTACAAATTGAAATTATGGC	6	ttc	
cons939_2_A_0	151	TGTAAACGCGACTCACTCCA	CGGCATTTGTATCGTGTGA	7	aag	
cons940_2_A_0	97	ACTTGTGGAGGTGGGGAAAT	GCTGATTCCGAATAAATCCC	6	ttc	
cons942_3_A_0	241	GGGACTCACTTGCTCCGT	GGATTCAAGAAATCTACGTGCC	5	ttg	
cons956_2_A_0	117	CTATCCCTTCTCCCCTTCA	GCGAGGGGAAGTTCGTATC	9	ttc	
cons962_2_A_0	258	GTGTCTTGCCATGTCTGTCA	CAGTCAGTCTGCATCAATACC	6	gtt	
cons968_2_A_0	90	ATATTTTCCCGTCGATATCCC	TCTCTTTTCAACTCCCGGAC	5	gtt	
cons989_3_A_0	107	GCAACAGCCATACAGCTCAA	GAGCAAGCAGCTCATTGACA	5	aac	
cons98_6_A_0	100	CAGTTATAATAGCGCCGGA	TGCTAGGAAGAGGGACAGGT	5	tc	

Abstract

Mango crops in Reunion Island are threatened by a series of pests, including the bug *Orthops palus* (Heteroptera, Miridae). This species has only been reported in Uganda and Reunion Island but is considered pest of mango only in Reunion Island. Few studies have therefore been devoted to this bug, which explains the lack of knowledge concerning this pest. The overall aim of my thesis was to acquire knowledge about *O. palus*, and several specific objectives were pursued. The first was to characterize mirid diversity in the mango orchards of Reunion Island. The second was to characterize the life cycle of *O. palus* and insect-plant interactions. The third objective was to study the distribution and genetic diversity of the species in Reunion Island and on other islands in the south-west Indian Ocean (SWIO).

The main results of these studies are: among the 13 species identified in the community of mirids in mango orchards, *O. palus* was the most abundant on the mango inflorescences when in flower. Three original tools were built to identify *O. palus* in the laboratory and to recognize the species in the field: an identification key, COI sequences, and a field recognition card). A method was developed to rear *O. palus*, which enabled the characterization of its life cycle and the length of the development stages. Meanwhile, the inventory of *in situ* host plants (15 species in Reunion Island) showed that *O. palus* is polyphagous. Studies of the diversity and genetic structure of *O. palus* in SWIO islands also provided significant results. In Reunion Island, the population is structured in two clusters, although the structural factors could not be fully identified. In Mauritius, one cluster was identified and was shown to be different from the clusters in Reunion Island. No host race was found either in Reunion Island or in Mauritius. Population movements in both directions between the two islands were highlighted. Finally, the analysis of the mitochondrial DNA diversity of individuals sampled on four SWIO islands (Reunion, Mauritius, Mayotte, Grande Comore) revealed the presence of at least seven haplotypes whose distribution confirmed exchanges between islands.

The dynamics of *O. palus* in space and over time are discussed in connection with its survival strategy over the course of the year and with population flows across SWIO. The results showed that beyond being a bug that attacks only the mango tree, as the name strongly suggests, *O. palus* is rather a "flower bug" likely to maintain populations throughout the year by moving from one flowering plant to another according to food availability. Among the plants involved in the annual dynamics of the insect, several species beside mango are of economic interest (lychee, jujube, avocado).

Several research topics are proposed to complete the knowledge already acquired on *O. palus*, including understanding of population dispersion processes at the scale of the agro-ecosystem, and evaluating the presence and the genetic diversity of *O. palus* in other SWOI territories.

Finally, agroecological practices for the local management of *O. palus* populations are proposed based on the results of the studies that comprise the present dissertation. Recommendations are made for precautionary measures to prevent the flow of *O. palus* populations between countries located in the Indian Ocean.

Résumé

La culture du manguiier à La Réunion est confrontée à un cortège de bioagresseurs, dont la punaise *Orthops palus* (Heteroptera, Miridae). Cette espèce est uniquement signalée en Ouganda et à La Réunion mais n'est considérée comme ravageur du manguiier qu'à La Réunion. Peu d'études ont donc été consacrées à cet insecte, ce qui est à l'origine du manque de connaissance sur ce ravageur. L'objectif général de cette thèse est l'acquisition de connaissances sur *O. palus*. Il se décline en plusieurs objectifs spécifiques. Il s'agit, dans un premier temps, de caractériser la diversité de mirides présentes dans les vergers de manguiiers de La Réunion. Dans un deuxième temps, l'objectif est de caractériser le cycle biologique d'*O. palus* et les interactions insecte-plantes. Enfin, dans un troisième temps, le dernier objectif consiste à étudier la distribution et la diversité génétique de l'espèce à La Réunion et dans la zone Sud-Ouest de l'Océan Indien (SOOI).

Les principaux résultats de la thèse sont les suivants. La miridofaune des vergers de manguiiers a été étudiée et, parmi les 13 espèces de mirides recensées, *O. palus* est l'espèce la plus abondante sur les inflorescences du manguiier lors de sa floraison. Pour identifier *O. palus* au laboratoire et la reconnaître sur le terrain, trois outils originaux ont été construits (une clé d'identification, des séquences du Cytochrome c Oxydase I et une fiche de reconnaissance sur le terrain). Un élevage d'*O. palus* a été mis au point ; il a permis de caractériser son cycle biologique et de mesurer les durées de développement des différents stades. Parallèlement, l'inventaire *in situ* des plantes hôtes d'*O. palus* (15 espèces à La Réunion) a montré le caractère polyphage de l'espèce. Les études sur la diversité et la structuration génétique d'*O. palus* dans les îles du SOOI ont apporté des résultats importants. A La Réunion, la population d'*O. palus* est structurée en deux clusters, mais les facteurs structurant n'ont pu être totalement identifiés. A Maurice, une seule population est recensée et demeure différente de celles de La Réunion. Aucune race d'hôte n'a été mise en évidence, ni à La Réunion, ni à Maurice. Des flux de populations, dans les deux sens, ont été mis en évidence entre ces deux îles. Enfin, l'analyse de la diversité de l'ADN mitochondrial sur des individus prélevés sur quatre îles du SOOI (La Réunion, Maurice, Mayotte, Grande Comore) montre la présence d'au moins sept haplotypes dont la distribution confirme les échanges inter-îles.

La dynamique spatiale et temporelle de l'insecte en relation avec sa stratégie de passage de l'année ainsi que les flux de populations à l'échelle du SOOI font l'objet de discussions transversales. Les résultats montrent qu'au-delà d'être une punaise s'attaquant uniquement au manguiier, comme son nom le suggérait jusqu'à présent, *O. palus* est surtout une "Punaise des fleurs", susceptible de se maintenir toute l'année en se déplaçant, selon la disponibilité des ressources alimentaires, de plante en fleur à plante en fleur. Parmi les plantes participant à sa dynamique annuelle, plusieurs sont des plantes d'intérêt économique (litchi, jujubier, avocatier).

Diverses perspectives de recherche sont proposées pour compléter les connaissances déjà acquises sur *O. palus*, notamment la compréhension des processus de dispersion des populations à l'échelle de l'agroécosystème, la vérification de la présence d'*O. palus* dans d'autres territoires du SOOI et l'étude de sa diversité génétique dans cette même région.

Enfin, à la lumière des résultats acquis dans la thèse, des propositions de gestion agroécologique des populations d'*O. palus* à l'échelle locale, ainsi que des recommandations sur les mesures de précaution à prendre pour éviter les flux de populations entre les pays de l'Océan Indien sont faites.